



UNIVERZITET U NOVOM SADU

PRIRODNO-MATEMATIČKI FAKULTET
Departman za hemiju, biohemiju i zaštitu životne
sredine



SINTEZA I BIOLOŠKA AKTIVNOST (-)-KLEISTENOLIDA I NJEGOVIH ANALOGA

DOKTORSKA DISERTACIJA

Mentori:

Dr Goran Benedeković
Dr Dimitar Jakimov

Kandidat:

Farkas Sándor

Novi Sad, 2023.

КЉУЧНА ДОКУМЕНТАЦИЈСКА ИНФОРМАЦИЈА¹

Врста рада:	Докторска дисертација
Име и презиме аутора:	Шандор Фаркаш
Ментори (титула, име, презиме, звање, институција)	Др Горан Бенедковић, виши научни сарадник, Природно-математички факултет, Универзитет у Новом Саду Др Димитар Јакимов, научни сарадник, Институт за онкологију Војводине, Медицински факултет, Универзитет у Новом Саду
Наслов рада:	Синтеза и биолошка активност (–)-клеистенолида и његових аналога
Језик публикације (писмо):	Српски (латиница)
Физички опис рада:	Унети број: Страница: 150 Поглавља: 10 Референци: 53 Табела: 21 Слика: 101 Схема: 25 Графикона Прилога: 1
Научна област:	Хемијске науке
Ужа научна област (научна дисциплина):	Биохемија и медицинска хемија
Кључне речи / предметна одредница:	(–)-Клеистенолид (1), 5-(<i>enu</i>)-клеистенолид (50), синтеза, цитотоксичност, антимикуробна активност, SAR анализа
Резиме на језику рада:	У овом раду је остварена нова, вишефазна синтеза природног лактона (–)-клеистенолида (1) и његових одговарајућих C-4, C-5 и C-6 аналога. Поред тога, испитивана је биолошка активност новосинтетизованих аналога. Најзначајнија антипролиферативна активност је уочена према K562, Раји и А549 ћелијским линијама, а већина синтетизованих једињења је испољила добру активност према свим испитиваним ћелијским линијама. Поред цитотоксичности, испитана је и антимикуробна активност ново-синтетизованих аналога (–)-клеистенолида (1) где је уочена добра активност испитиваних једињења. На крају је урађена и SAR анализа са циљем да се упоређи активност новосинтетизованих аналога са природним производом (–)-клеистенолидом (1) како би се имао увид да ли су примењене успешне структурне модификације.
Датум прихватања теме од стране надлежног већа:	14. 04. 2022.
Датум одбране: (Попуњава одговарајућа служба)	

¹ Аутор докторске дисертације потписао је и приложио следеће Обрасце:

5б – Изјава о ауторству;

5в – Изјава о истоветности штампане и електронске верзије и о личним подацима;

5г – Изјава о коришћењу.

Ове Изјаве се чувају на факултету у штампаном и електронском облику и не кориче се са тезом.

Чланови комисије: (титула, име, презиме, звање, институција)	Председник: Др Бојана Срећо Зеленовић, ванредни професор, Природно-математички факултет, Универзитет у Новом Саду Члан: Др Весна Којић, виши научни сарадник, Институт за онкологију Војводине, Медицински факултет, Универзитет у Новом Саду Члан: Др Милош Свирчев, доцент, Природно-математички факултет, Универзитет у Новом Саду Члан: Др Милена Рашета, научни сарадник, Природно-математички факултет, Универзитет у Новом Саду Ментор: Др Горан Бенедковић, виши научни сарадник, Природно-математички факултет, Универзитет у Новом Саду Ментор: Др Димитар Јакимов, научни сарадник, Институт за онкологију Војводине, Медицински факултет, Универзитет у Новом Саду
Напомена:	

UNIVERSITY OF NOVI SAD
Faculty of Sciences

KEY WORD DOCUMENTATION²

Document type:	Doctoral dissertation
Author:	Sándor Farkas
Supervisor (title, first name, last name, position, institution)	Dr. Goran Benedeković, Senior Research Associate, Faculty of Sciences, University of Novi Sad Dr. Dimitar Jakimov, Research Associate, Oncology Institute of Vojvodina, Faculty of Medicine, University of Novi Sad
Thesis title:	Synthesis and biological activity of (–)-cleistenolide and its analogues
Language of text (script):	Serbian language (latin script)
Physical description:	Number of: Pages: 150 Chapters: 10 References: 53 Tables: 21 Illustrations: 101 Shema: 25 Graphs: Appendices: 1
Scientific field:	Chemistry science
Scientific subfield (scientific discipline):	Biochemistry and Medical chemistry
Subject, Key words:	(–)-Cleistenolide (1), 5-(<i>epi</i>)-cleistenolide(50), synthesis, cytotoxicity, antimicrobial activity, SAR analysis
Abstract in English language:	In this work, a new, multiphase synthesis of the natural lactone (–)-cleistenolide (1) and its corresponding C-4, C-5 and C-6 analogues was achieved. The biological activity of the newly synthesized analogues were tested. The highest cytotoxicity effect was find against K562, Raja and A549 cell lines, and most of the synthetized compounds showed good activity

² The author of doctoral dissertation has signed the following Statements:

5б – Statement on the authority,

5в – Statement that the printed and e-version of doctoral dissertation are identical and about personal data,

5г – Statement on copyright licenses.

The paper and e-versions of Statements are held at he faculty and are not included into the printed thesis.

	against all tested cell lines. In addition, the antimicrobial activity of the new analogs was also tested, and it was found good activity of the tested compounds. At the end, it was performed a SAR analysis to compare the activity of the newly synthesized analogs with the natural product (-)-cleistenolide (1) to see if it has been successfully modified the structure.
Accepted on Scientific Board on:	14. 04. 2022.
Defended: (Filled by the faculty service)	
Thesis Defend Board: (title, first name, last name, position, institution)	<p>President: Dr. Bojana Srećo Zelenović, Associate Professor, Faculty of Sciences, University of Novi Sad</p> <p>Member: Dr. Vesna Kojić, Senior Research Associate, Oncology Institute of Vojvodina, Faculty of Medicine, University of Novi Sad</p> <p>Member: Dr. Miloš Svirčev, Assistant Professor, Faculty of Sciences, University of Novi Sad</p> <p>Member: Dr. Milena Rašeta, Research Associate, Faculty of Sciences, University of Novi Sad</p> <p>Mentor: Dr. Goran Benedeković, Senior Research Associate, Faculty of Sciences, University of Novi Sad</p> <p>Mentor: Dr. Dimitar Jakimov, Research Associate, Oncology Institute of Vojvodina, Faculty of Medicine, University of Novi Sad</p>
Note:	

Predgovor

Ova doktorska disertacija je urađena u laboratoriji za bioorgansku i medicinsku hemiju, Departmana za hemiju, biohemiju i zaštitu životne sredine, Prirodno-matematičkog fakulteta, Univerziteta u Novom Sadu, pod mentorstvom višeg naučnog saradnika dr Gorana Benedekovića i naučnog saradnika dr Dimitra Jakimova kojima se iskreno zahvaljujem na pruženoj pomoći tokom izrade i pisanja rada.

Zahvaljujem se profesorima dr Velimiru i dr Mirjani Popsavin za preneto znanje, savete i sugestije u svakodnevnom radu, kao i za snimanje NMR spektara i rešavanja problema oko samih spektara.

Zahvaljujem se i uvaženim: dr Bojani Srećo Zelenović, dr Vesni Kojić, dr Milošu Svirčevu i dr Mileni Rašeti na pokazanom interesovanju za ovu disertaciju.

Zahvaljujem dr Gordani Bogdanović iz Onkološkog instituta Vojvodine u Sremskoj Kamenici na pomoći pri određivanju antiproliferativne aktivnosti.

Zahvaljujem dr Jasmini Nikodinović-Runić i njenim saradnicima iz Instituta za molekularnu genetiku i genetičko inženjerstvo Univerzitet u Beogradu, na pomoći pri određivanju antimikrobne aktivnosti.

Zahvaljujem se dr Jovani Francuz i dr Ivani Kovačević za sve korisne savete kako u laboratorijskom radu, tako i u životu.

Zahvaljujem se msc Sanji Đokić, msc Jeleni Kesić, msc Slađani Stanisavljević i msc Bojanu Levovniku na svakodnevnom druženju i zajedničkom radu u laboratoriju.

Zahvaljujem se msc Ivani Krstić, Nini Kupršanin i Sanji Žjak na pruženoj tehničkoj podršci.

Zahvaljujem se dr Milki Jadranin sa IHTM-Centra za hemiju u Beogradu na snimanju masenih spektara visoke rezolucije i pomoći pri određivanju vrednosti optičke rotacije.

Takođe zahvaljujem se dr Branislavu Joviću i dr Branku Kordiću na snimljenim IR spektrima.

Zahvaljujem Dr Ivani Beari i Dr Tatjani Majkić za savete i pomoć oko sređivanja dokumentacije u vezi sa doktorskom disertacijom.

Posebno se zahvaljujem dr Mileni Rašeta i Jasmini Erdei Popović, vi ste mi bile druga familija iz Novog Sada kada god sam imao neki problem znao sam da na vas uvek mogu da računam, a da ne spomenem naše svakodne beskrajne priče i savete prilikom rešavanja problema.

Hvala mojim prijateljima Adamu, Ákosu, Árpiki, Benciku, Boglárki, Mátéu, Molni, Patriku, Renáti, Roliki, Tibiku i Zsoltu što su bili uz mene!

Pre svega, želeo bih da se zahvalim svom bratu Arpádu, ne znam ni odakle da počnem, pomogao si mi na mnogo načina, ne samo tokom studija već i u životu, i znam da uvek mogu da računam na tebe, a i ti na mene!

Želeo bih da se zahvalim svojim roditeljima, Istvánu i Ildikó. Iskreno, vi ste me vaspitali, ova disertacija nije samo moj uspeh, već i vaš. Da me niste uputili na pravi put, ja ne bih došao do ovog trenutka. Da ne pričam o tome da ni finansijski nije bilo lako, mogu samo da zamislim u kakvim smo problemima bili, ali nikada mi niste dozvolili da fakultet bude na čekanju. Uvek ste govorili: „samo ti završi fakultet, mi ćemo sve ostalo malo po malo rešavati”. Želeo bih da mi dozvolite da pokušam da se brinem o vama u budućnosti onako kako zaslužujete.

Na kraju, želeo bih da se zahvalim mojoj devojci Annamariji. Mnogo sam razmišljao o tome šta da napišem, jer podrška i pomoć koju sam od tebe dobio ne može se izraziti rečima. Bila si sa mnom u svakoj radosti i problemu, interesovala se da li je moj dnevni plan uspešan, tešila me ako nije i ohrabivala me ako sam imao uspešan dan. Zvala si me u svakoj situaciji, i kada bih se zadržao na fakultetu, pravila si mi društvo kada bi me bolela glava ukoliko neko jedinjenje ne mogu da prečistim. Iako ne znam da li ćeš biti u mogućnosti da budeš samnom kada budem branio disertaciju, ali želim ovim putem da ti kažem da bez tebe sve ovo ne bi bilo moguće!

Farkas Sándor

SADRŽAJ

1	UVOD	1
2	OPŠTI DEO	2
2.1	(-)-Kleistenolid: Izolacija, osobine i struktura	2
2.2	Sinteze (-)-kleistenolida	4
3	NAŠI RADOVI	21
3.1	Strategija sinteze i izbor polaznog materijala	21
3.2	Sinteza (-)-kleistenolida (1) i njegovih C-4 analoga	24
3.3	Sinteza C-6 analoga (-)-kleistenolida (1)	29
3.4	Sinteza 4,6-di-O-benzil i 6,7-di-O-acetil C-6 supstituisanih analoga (-)- kleistenolida (1).....	32
3.5	Sinteza 5- <i>epi</i> -(-)-kleistenolida (50)	33
3.6	Ispitivanje antiproliferativne aktivnosti	34
3.7	Antimikrobna aktivnost.....	41
3.8	Identifikovanje veza između strukture sintetizovanih jedinjenja i njihove antiproliferativne aktivnosti (SAR).....	43
4	EKSPERIMENTALNI DEO	47
4.1	3-O-Benzil-1,2:5,6-di-O-izopropiliden- α -D-glukofuranoza (3).....	47
4.2	3-O-Benzil-1,2-O-izopropiliden- α -D-glukofuranoza (4)	48
4.3	3-O-Benzil-6-O-benzoil-1,2-O-izopropiliden- α -D-glukofuranoza (5).....	48
4.4	5-O-Acetil-3-O-benzil-6-O-benzoil-1,2-O-izopropiliden- α -D-glukofuranoza (6).....	49
4.5	5-O-Acetil-3-O-benzil-6-O-benzoil- α -D-glukofuranoza (7)	50
4.6	Metil (2' <i>Z</i>)-4,6,7-tri-O-benzil-2,3-dideoksi-D- <i>arabino</i> -hept-2-enoat (8)	51
4.7	6-O-Acetil-4-O-benzil-7-O-benzoil-2,3-dideoksi-D- <i>arabino</i> -hept-2-en-1,5- lakton (9)	52
4.8	6-O-Acetil-7-O-benzoil-2,3-dideoksi-D- <i>arabino</i> -hept-2-en-1,5-lakton (10)	53
4.9	(-)-Kleistenolid (1)	54
4.10	6-O-Acetil-4-O-(2,4,6-trihlorobenzoil)-7-O-benzoil-2,3-dideoksi-D- <i>arabino</i> - hept-2-en-1,5-lakton (11)	55
4.11	6-O-Acetil-4-O-(3-metoksibenzoil)-7-O-benzoil-2,3-dideoksi-D- <i>arabino</i> -hept- 2-en-1,5-lakton (12)	55
4.12	4-O-Acetil-7-O-benzoil-2,3-dideoksi-D- <i>arabino</i> -hept-2-en-1,5-lakton (13)	56

4.13	6- <i>O</i> -Acetil-4- <i>O</i> -cinamoil-7- <i>O</i> -benzoil-2,3-dideoksi- <i>D-arabino</i> -hept-2-en-1,5-lakton (14).....	57
4.14	6- <i>O</i> -Acetil-4- <i>O</i> -(4-fluorocinamoil)-7- <i>O</i> -benzoil-2,3-dideoksi- <i>D-arabino</i> -hept-2-en-1,5-lakton (15).....	57
4.15	6- <i>O</i> -Acetil-4- <i>O</i> -(4-metoksicinamoil)-7- <i>O</i> -benzoil-2,3-dideoksi- <i>D-arabino</i> -hept-2-en-1,5-lakton (16)	58
4.16	6- <i>O</i> -Acetil-4- <i>O</i> -(4-nitrocinoil)-7- <i>O</i> -benzoil-2,3-dideoksi- <i>D-arabino</i> -hept-2-en-1,5-lakton (17).....	59
4.17	6- <i>O</i> -Acetil-4- <i>O</i> -(3,4-dimetoksicinamoil)-7- <i>O</i> -benzoil-2,3-dideoksi- <i>D-arabino</i> -hept-2-en-1,5-lakton (18)	60
4.18	6- <i>O</i> -Acetil-4- <i>O</i> -metansulfonil-7- <i>O</i> -benzoil-2,3-dideoksi- <i>D-arabino</i> -hept-2-en-1,5-lakton (19).....	61
4.19	6- <i>O</i> -Acetil-4- <i>O</i> -(<i>p</i> -toluensulfonil)-7- <i>O</i> -benzoil-2,3-dideoksi- <i>D-arabino</i> -hept-2-en-1,5-lakton (20).....	61
4.20	6- <i>O</i> -Acetil-4- <i>O</i> -(<i>terc</i> -butildimetilsilil)-7- <i>O</i> -benzoil-2,3-dideoksi- <i>D-arabino</i> -hept-2-en-1,5-lakton (21)	62
4.21	6- <i>O</i> -Acetil-4- <i>O</i> -(<i>terc</i> -butildidifenilsilil)-7- <i>O</i> -benzoil-2,3-dideoksi- <i>D-arabino</i> -hept-2-en-1,5-lakton (22)	63
4.22	6- <i>O</i> -Acetil-4- <i>O</i> -difenilacetil-7- <i>O</i> -benzoil-2,3-dideoksi- <i>D-arabino</i> -hept-2-en-1,5-lakton (23).....	63
4.23	6- <i>O</i> -Acetil-4-hloro-7- <i>O</i> -benzoil-2,3,4-trideoksi- <i>D-arabino</i> -hept-2-en-1,5-lakton (24).....	64
4.24	Metil (2' <i>Z</i>)-4,6,7- <i>tri-O</i> -benzil-2,3-dideoksi- <i>D-arabino</i> -hept-2-enoat (27).....	65
4.25	4,6,7-Tri- <i>O</i> -benzil-2,3-dideoksi- <i>D-arabino</i> -hept-2-en-1,5-lakton (28).....	66
4.26	4,7-Di- <i>O</i> -benzil-2,3-dideoksi- <i>D-arabino</i> -hept-2-en-1,5-lakton (29).....	66
4.27	6- <i>O</i> -Benzoil-4,7-di- <i>O</i> -benzil 2,3-dideoksi- <i>D-arabino</i> -hept-2-en-1,5-lakton (30)	67
4.28	4,7-Di- <i>O</i> -benzil-6- <i>O</i> -(<i>trans</i> -cinamoil)-2,3-dideoksi- <i>D-arabino</i> -hept-2-en-1,5-lakton (31)	68
4.29	4,7-Di- <i>O</i> -benzil-6- <i>O</i> -(<i>trans</i> -4-fluorocinamoil)-2,3-dideoksi- <i>D-arabino</i> -hept-2-en-1,5-lakton (32).....	69
4.30	4,7-Di- <i>O</i> -benzil-6- <i>O</i> -(<i>trans</i> -4-metoksicinamoil)-2,3-dideoksi- <i>D-arabino</i> -hept-2-en-1,5-lakton (33)	69
4.31	4,7-Di- <i>O</i> -benzil-6- <i>O</i> -(<i>trans</i> -4-nitrocinoil)-2,3-dideoksi- <i>D-arabino</i> -hept-2-en-1,5-lakton (34).....	70
4.32	7- <i>O</i> -Acetil-4- <i>O</i> -benzil-6- <i>O</i> -benzoil-2,3-dideoksi- <i>D-arabino</i> -hept-2-en-1,5-lakton (35).....	71
4.33	7- <i>O</i> -Acetil-4- <i>O</i> -benzil-6- <i>O</i> -(<i>trans</i> -cinamoil)-2,3-dideoksi- <i>D-arabino</i> -hept-2-en-1,5-lakton (36).....	72
4.34	7- <i>O</i> -Acetil-4- <i>O</i> -benzil-6- <i>O</i> -(<i>trans</i> -4-fluorocinamoil)-2,3-dideoksi- <i>D-arabino</i> -hept-2-en-1,5-lakton (37)	73

4.35	7- <i>O</i> -Acetil-4- <i>O</i> -benzil-6- <i>O</i> -(<i>trans</i> -4-metoksicinamoil)-2,3-dideoksi- <i>D-arabino</i> -hept-2-en-1,5-lakton (38).....	74
4.36	7- <i>O</i> -Acetil-4- <i>O</i> -benzil-6- <i>O</i> -(<i>trans</i> -4-nitrocinamoil)-2,3-dideoksi- <i>D-arabino</i> -hept-2-en-1,5-lakton (39).....	74
4.37	4,7-Di- <i>O</i> -Acetil-6- <i>O</i> -benzoil-2,3-dideoksi- <i>D-arabino</i> -hept-2-en-1,5-lakton (40).....	75
4.38	4,7-Di- <i>O</i> -Acetil-6- <i>O</i> -(<i>trans</i> -cinamoil)-2,3-dideoksi- <i>D-arabino</i> -hept-2-en-1,5-lakton (41).....	76
4.39	4,7-Di- <i>O</i> -Acetil-6- <i>O</i> -(<i>trans</i> -4-fluorocinamoil)-2,3-dideoksi- <i>D-arabino</i> -hept-2-en-1,5-lakton (42).....	77
4.40	4,7-Di- <i>O</i> -Acetil-6- <i>O</i> -(<i>trans</i> -4-metoksicinamoil)-2,3-dideoksi- <i>D-arabino</i> -hept-2-en-1,5-lakton (43).....	78
4.41	4,7-Di- <i>O</i> -Acetil-6- <i>O</i> -(<i>trans</i> -4-nitrocinamoil)-2,3-dideoksi- <i>D-arabino</i> -hept-2-en-1,5-lakton (44).....	79
4.42	6,7-Di- <i>O</i> -Acetil-4- <i>O</i> -benzil-2,3-dideoksi- <i>D-arabino</i> -hept-2-en-1,5-lakton (45).....	80
4.43	6,7-Di- <i>O</i> -Acetil-4- <i>O</i> -benzoil-2,3-dideoksi- <i>D-arabino</i> -hept-2-en-1,5-lakton (46).....	81
4.44	4,6-Di- <i>O</i> -benzil-7- <i>O</i> -benzoil-2,3-dideoksi- <i>D-arabino</i> -hept-2-en-1,5-lakton (47).....	81
4.45	6,7-Di- <i>O</i> -Acetil-6- <i>O</i> -2,3-dideoksi- <i>D-arabino</i> -hept-2-en-1,5-lakton (48).....	82
4.46	4,6,7-Tri- <i>O</i> -benzil-6- <i>O</i> -2,3-dideoksi- <i>D-likso</i> -hept-2-en-1,5-lakton (49).....	83
4.47	(-)-5- <i>epi</i> -Kleistenolid (50).....	84
5	ZAKLJUČAK	85
6	SUMMARY	90
7	SKRAĆENICE	95
8	LITERATURA	97
9	PRILOG	100
10	BIOGRAFIJA	150

1 UVOD

Biljka *Cleistochlamys kirkii* Oliver. iz familije *Annonaceae*, poreklom je iz Afrike, gde se u Mozambiku odavno primenjuje u tradicionalnoj medicini za lečenje inficiranih rana, tuberkuloze i reumatizma¹. Na primer, ekstrakt ove biljke se pije 2-3 puta dnevno u lečenju tuberkuloze i reumatizma, dok se obloge biljne vrste *C. kirkii* primenjuju za lečenje reumatizma. Međutim, daleko su značajnija nedavna otkrića^{2,3} da izolovane frakcije u kojima dominira heptenolid-piranon (–)-kleistenolid pokazuju značajnu antibakterijsku (*Staphylococcus aureus* i *Bacillus anthracis*) i antigljivičnu (*Candida albicans*) aktivnost.

U okviru istraživanja koja se već godinama izvode u našoj laboratoriji, a koja su usmerena na sintezu prirodnih citotoksičnih laktona i analoga iz rasprostranjenih monosaharida, planiran je i razvoj postupka totalne sinteze (–)-kleistenolida, 6-članog laktona koji je nedavno izolovan³ iz biljke *C. kirkii*. U topološkom pogledu, (–)-kleistenolid je C₆ ((S)-6-) supstituisani derivat 5,6-dihidro-2H-piran-2-ona, čija je struktura određena spektroskopskim metodama, dok je njegova relativna konfiguracija potvrđena rendgeno-strukturnom analizom.³

Primarni ciljevi ove doktorske disertacije su sinteza odgovarajućih C-4, C-5 i C-6 analoga prirodnoga proizvoda (–)-kleistenolida (**1**) i *in vitro* ispitivanje njihove antiproliferativne i antimikrobne aktivnosti. Posebna pažnja je posvećena ispitivanju korelacionih odnosa između strukture i biološke aktivnosti SAR (*Structure Activity Relationship*) sintetizovanih jedinjenja. Sekundarni cilj je na polju sinteze samog prirodnoga proizvoda (–)-kleistenolida (**1**), u smislu pojednostavljenja sinteze i eventualnog dobijanja većeg finalnoga prinosa.

Strategija sinteze (–)-kleistenolida (**1**) i njegovih analoga, zasnovana je na konceptu “hiralnih templa”⁴, odnosno na uspostavljanju strukturnih korelacija između ciljnog laktona i D-glukoze, koja je na taj način odabrana kao pogodan hiralni polazni molekul. Stereo- i hemoselektivne transformacije pomenutog hiralnog prekursora, omogućile su jednostavan pristup svim sintetičkim intermedijerima, a samim tim i finalnom proizvodu, koji se pri tome dobija u nativnoj – enantiomerno čistoj formi.

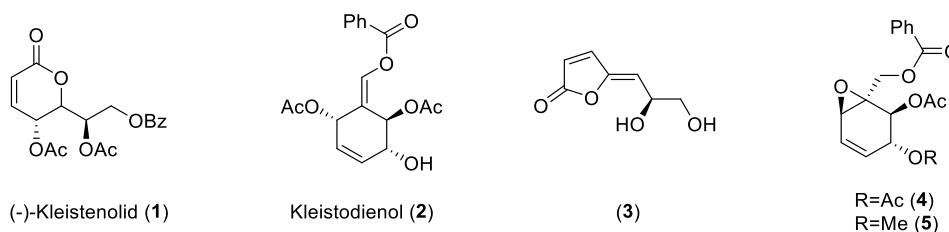
Obzirom da je u literaturi opisan značajan broj totalnih sinteza⁵⁻¹⁶ (–)-kleistenolida (**1**) (što je posledica značajne biološke aktivnosti ovog prirodnog proizvoda), u opštem delu rada ukratko je diskutovana fizičko-hemijska karakterizacija jedinjenja izolovanih iz biljke *C. kirkii*, kao i do sada ostvarene sinteze (–)-kleistenolida (**1**).

2 OPŠTI DEO

2.1 (–)-Kleistenolid: Izolacija, osobine i struktura

Kao što je već pomenuto u Uvodu, *C. kirkii* (*Annonaceae*) je afrička lekovita biljka koja se tradicionalno koristi u Mozambiku za lečenje inficiranih rana, tuberkuloze i reumatizma.¹ Prethodne fitohemijske studije² su u ekstraktima ove biljke otkrile prisustvo većeg broja heptenolida i cikloheksanskih derivata, a među njima je i (–)-kleistenolid (**1**) za kojega je ustanovljeno da poseduje značajnu antimikrobnu aktivnost protiv osetljivih sojeva bakterija (*S. aureus* i *B. anthracis*), kao i antifungalno delovanje protiv *C. albicans*.

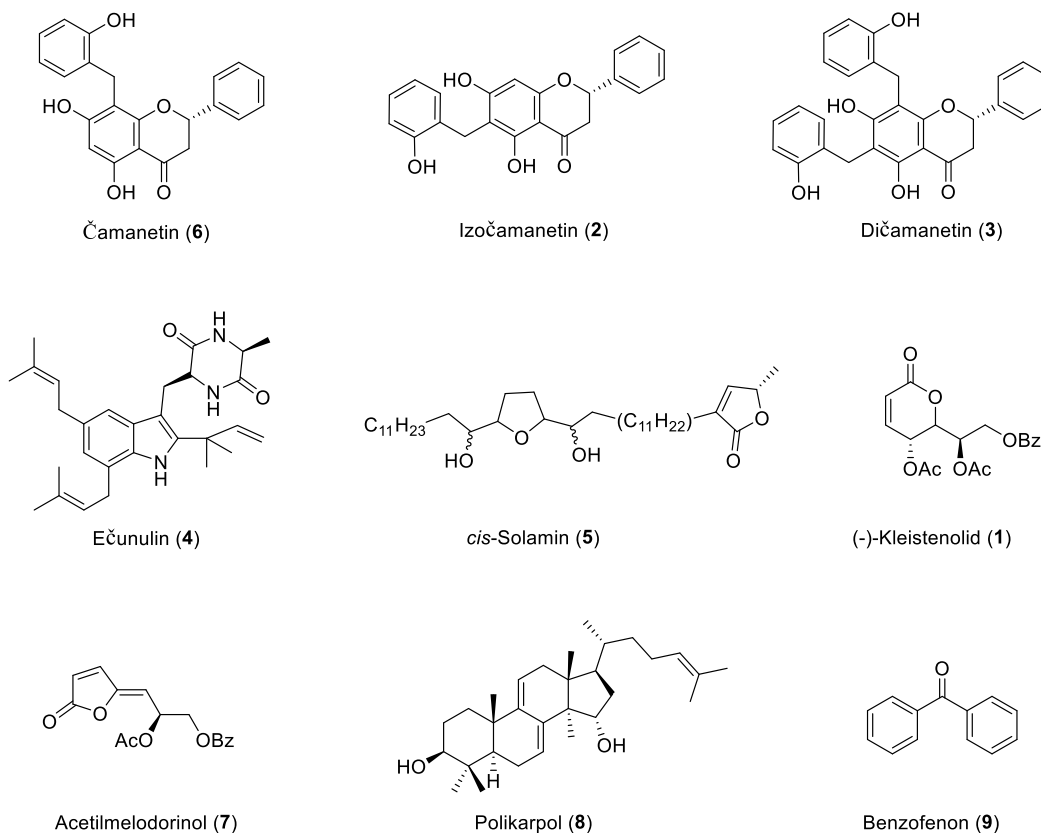
U sklopu širega višegodišnjeg projekta gde ispitano oko 84 *Annonaceae* vrsta, grupa naučnika iz Tanzanije je 2007. godine publikovala rad³ u kome je opisano izolovanje nekoliko novih jedinjenja iz metanolnih ekstrakta biljne vrste *C. kirkii*. Pored (–)-kleistenolida (**1**), identifikovani su kleistodienol (**2**) i njegovi derivati, cikloheksanski epoksidi (+)- β -senepoksid (**4**) i (+)-pandoksid (**5**) kao i (Z)-(+)-5-(2,3-dihidroksi-propiliden)-5H-furan-2-on (**3**) (*Shema 2.1.*).



Shema 2.1. Strukture izolovanih jedinjenja iz metanolnih ekstrakta biljke biljke *C. kirkii*.

Grupa portugalskih¹⁷ hemičara je 2016. godine uradila novija istraživanja sastava etanolnog ekstrakta *C. kirkii* iz koga su osim (–)-kleistenolida (**1**), izolovali još osam jedinjenja veoma različitih struktura: čamametin (**6**), izočamametin (**2**), dičamametin (**3**), ečunulin (**4**), *cis*-solamin (**5**), acetilmelodorinol (**7**), polikarpol (**8**) i benzofenon (**9**). Strukture izolovanih jedinjenja su potvrđene spektroskopskim metodama i potom je ispitana njihova antibakterijska aktivnost. Kao što se na *Shemi 2.1.1.* može videti, čamametin (**6**) i izočamametin (**2**) predstavljaju *C*-benzilovane flavonone koji su poput heptenolida-piranona (–)-kleistenolida (**1**) ispoljili značajnu antibakterijsku aktivnost. Interesantno, dičamametin (**3**) je pokazao najjaču aktivnost (1–7.5 $\mu\text{g/mL}$), za razliku od preostalih jedinjenja (**4,5, 7-9**) koja su pokazala slabiju antibakterijsku aktivnost. Ečunulin (**4**) je triizoprenski ciklični dipeptid za koga je ustanovljeno da ima toksično dejstvo na žive organizme¹⁸,

dok je *cis*-solamin (**5**) mono-tetrahidrofuranski acetogenin za koga je poznato da poseduje jako antiproliferativno¹⁹⁻²¹ dejstvo (*Shema 2.1.1.*).



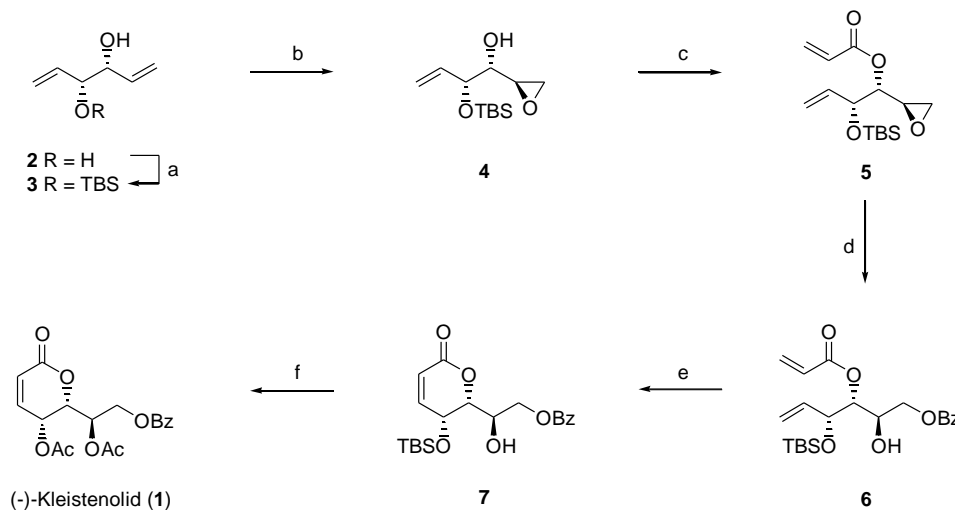
Shema 2.1.1. Strukture izolovanih jedinjenja iz biljke *C. kirkii*.

Acetilmelodorinol (**7**) je heptenolid koji pokazuje jaku antiproliferativnu²² i anti-inflamatornu²³ aktivnost. Polikarpol (**8**) je lanostenski triterpen koji poseduje snažnu antiparazitsku²⁴ i anti-inflamatornu²³ aktivnost, dok je benzofenon (**9**) poznati fotokatalizator koji ima sposobnost apstrakcije vodonika sa pogodnog vodonik-donora i uvek je prisutan u voću iz kog je izolovan.

Poslednja biološka ispitivanja jedinjenja **1** su pokazala umerenu antibakterijsku i antifungalnu aktivnost ali do naših¹³ istraživanja, antiproliferativna aktivnost prirodnog proizvoda (-)-kleistenolida (**1**) i njegovih derivata nisu bila poznata.

2.2 Sinteze (-)-kleistenolida

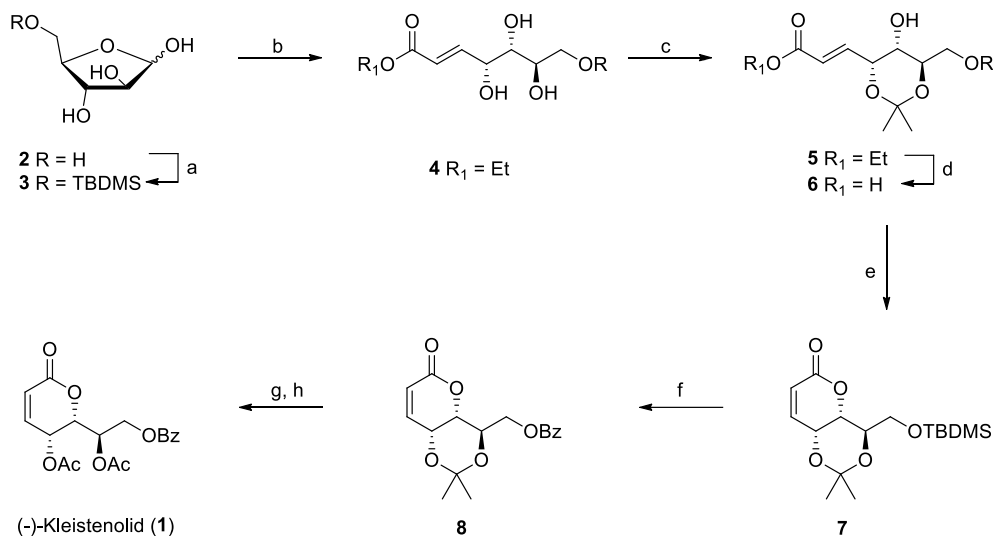
Početakom 2010. godine, prvu sintezu (-)-kleistenolida (**1**) su ostvarili Schmidt i saradnici⁵, gde je kao polazno jedinjenje upotrebljen (*R,R*)-1,5-heksadien-3,4-diol (**2**) koji se dobija iz manitola²⁵ (Shema 2.2.).



Shema 2.2. (a) TBSCl, imidazol, DCM, rt, 87%; (b) $\text{Ti}(\text{OPr}^i)_4$, L-(+)-DET, Bu^tOOH , DCM; $-30\text{ }^\circ\text{C}$, 28 d, 84%; (c) akroil hlorid, DIPEA, DCM, $0\text{ }^\circ\text{C}$, 3 h, 92%; (d) BzOH, DIPEA, rt, 46 h, 53%; (e) Grubbs II (10 mol%), fenol (50 mol%), toluen, $70\text{ }^\circ\text{C}$, 6 h, 75%; (f) TBAF, 5 min, Ac_2O , THF; rt, 1 h, 66%.

Reakcijom sililovanja sa *tert*-butilsilil hloridom u dihlorometanu na sobnoj temperaturi uz korićenje imidazola kao baze, diol **2** je preveden u odgovarajući silil etar **3**. Monosililni derivat **3** je potom epoksidovan sa L-(+)-DET, titanijum izopropoksidom i *tert*-butilperoksidom u dihlorometanu na niskoj temperaturi tokom 28 dana pri čemu je dobijen epoksid **4** u prinosu od 84%. Reakcijom **4** sa akroil hloridom i DIPEA u dihlorometanu na $0\text{ }^\circ\text{C}$ tokom 3 h, dobija se akrilatni estar **5** u prinosu od 92%. Reakcijom akrilata **5** sa BzOH u DIPEA na sobnoj temperaturi tokom 46 h se dobija benzoatni estar **6** u prinosu od 53%. Primenom Grubbs-ovog katalizatora II generacije i fenola, u toluenu na temperaturi od $70\text{ }^\circ\text{C}$, dolazi do zatvaranja prstena u jedinjenju **6** pri čemu se dobija laktonsko jedinjenje **7** u prinosu od 75%. Nakon uklanjanja sililne zaštite kratkotrajnim dejstvom TBAF-a u tetrahidrofuranu uz naknadnu esterifikaciju slobodnih alkoholnih grupa dodavanjem Ac_2O na sobnoj temperaturi tokom 1 h, dobija se (-)-kleistenolid (**1**) u prinosu od 66%. Konačni prinos prirodnoga proizvoda (-)-kleistenolida (**1**) koji je dobijen iz šest sintetičkih faza je bio 18%.

Veoma efikasnu sintezu (–)-kleistenolida (**1**) tokom druge polovine 2010. godine, ostvarili su Cai *et al.*⁶ iz D-arabinoze (Shema 2.2.1.).



Shema 2.2.1. (a) TBDMSCl, DMAP, Py, N₂, 0 °C → rt 12 h, 92%; (b) MCMP, dioksan, N₂, rt 2 h → 70 °C 5 h, 89%; (c) Me₂C(OMe)₂, PPTS, DCM, N₂, 0 °C → rt 10 h, 87%; (d) LiOH, THF/H₂O, rt, 5 h; (e) TCBC, Py, 0 °C → rt 5 h, 90% iz **4**; (f) TBAF, 0.5 h, THF, Bz₂O, rt, 8 h, 84%; (g) PdCl₂(CH₃CN)₂, aq CH₃CN, 65 °C, 24 h; (h) Ac₂O, Py, rt, 91% iz **8**.

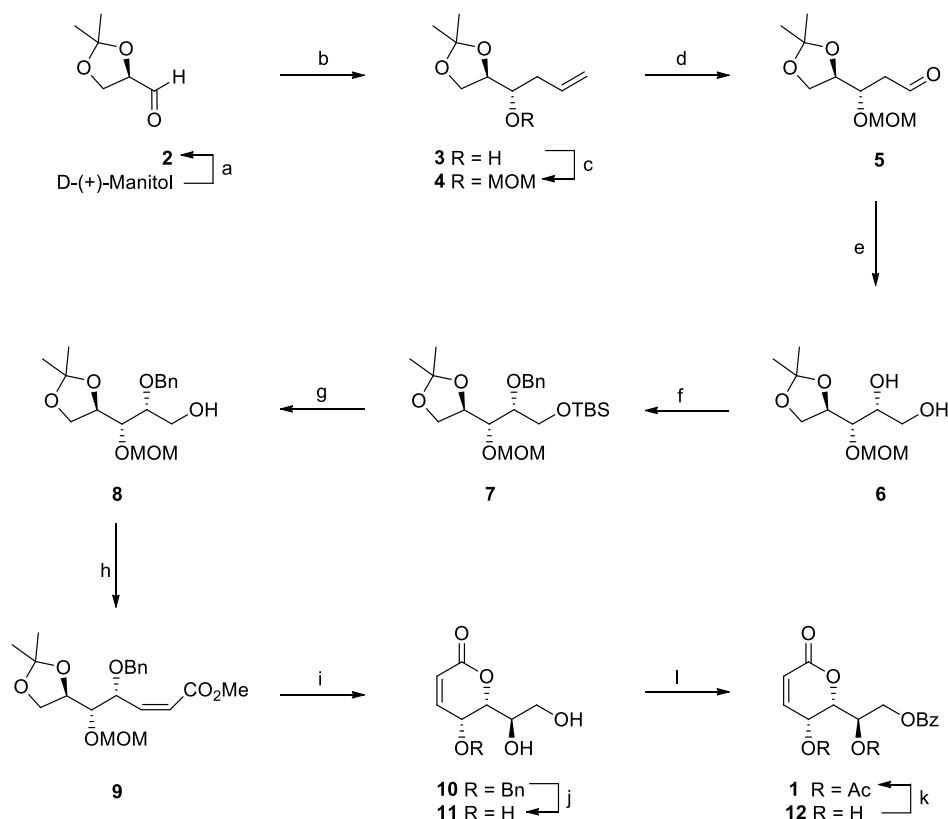
Primarna alkoholna funkcionalna grupa D-arabinoze (**2**) je selektivno sililovana dodavanjem TBDMSCl i DMAP (0 °C → rt, 12 h) rastvoru jedinjenja **2** u piridinu, pri čemu je dobijen očekivani 5-*O*-silil derivat **3** u prinosu od 92%. Jedinjenje **3** nakon Wittig-ove olefinacije sa ECMP-om u dioksanu prvo na sobnoj temperaturi tokom 2 h, a potom uz zagrevanje na 70 °C tokom 5 h, daje *E*-olefin **4** u prinosu od 89%. Uvođenje izopropilidenske zaštitne grupe u jedinjenje **4** je izvedeno dejstvom DMP-a u anhidrovanom dihlorometanu na 0 °C uz dodavanje kiselog katalizatora PPTS na sobnoj temperaturi tokom 10 h, pri čemu je dobijen 1,3-*trans*-acetal **5** u prinosu od 87%. Bazna hidroliza estera **5** ostvarena je dejstvom LiOH u aq THF na sobnoj temperaturi tokom 5 h, pri čemu se dobija kiselina **6** koja nakon tretmana sa smesom TCBC/DCM u piridinu (0 °C → rt, 2 h), daje ciklični zaštićeni lakton **7** u prinosu od 90% iz dve sintetičke faze. Dejstvom TBAF-a u THF na sobnoj temperaturi uklanja se sililna zaštita i uz naknadni tretman sa Bz₂O, se dobija odgovarajući ester **8** u prinosu 84%. Uklanjanjem izopropilidenske zaštitne grupe dejstvom PdCl₂(CH₃CN)₂ u aq CH₃CN na 65 °C u toku 24 h, dobija se intermedijerni diol koji naknadnim acetilovanjem smesom Ac₂O/Py daje (–)-kleistenolid (**1**) u prinosu od 91% iz dve sintetičke faze.

Ramesh i Meshram⁷ su početkom 2011 godine ostvarili sledeću sintezu prirodnog (–)-kleistenolida (**1**) (Shema 2.2.2.).

D-(+)-Manitol je korišten kao polazno jedinjenje, koji se potom primenom poznatog postupka²⁶ prevodi u di-*O*-izopropilidenski derivat **2**. Dejstvom BzCl i DMAP-a u piridinu (–78 °C → rt, 4 h),

TBAF-a u THF i tretiranjem sa Ac₂O na sobnoj temperaturi, pri čemu se dobija finalno jedinjenje **1** u prinosu od 62%. Finalni prinos (–)-kleistenolida (**1**) je bio 12.4% iz devet sintetičkih faza.

Sledeća sinteza iz komercijalnog diacetonida D-(+)-manitola je ostvarena od strane Subba Reddy *et al.*⁸ iste godine (Shema 2.2.3.).



Shema 2.2.3. (a) *Ref* 25, 75%; (b) Zn, alil bromid, THF, aq NH₄Cl, 6 h, 90%; (c) DIPEA, MOMCl, DCM, 0 °C, 2 h, 92%; (d) OsO₄, NMO, aq Me₂CO, rt, 4 h, potom NaIO₄, rt, 2 h, 92%; (e) D-prolin, nitrozobenzen, DCM, –10 °C, 1 h, 91%, potom NaBH₄, MeOH, 0.5 h, 70%; (f) TBSCl, imidazol, DCM, rt, 1 h, 91% potom BnBr, NaH, TBAI, THF, 0 °C→rt 2 h, 88%; (g) TBAF, THF, 0 °C→rt, 85%; (h) IBX, DMSO/DCM, rt, 3 h, 90%, zatim NaH, (CF₃CH₂O)₂P(O)CH₂CO₂CH₃, THF, 75%; (i) CeCl₃×7H₂O, CH₃CN, refluks, 12 h, 65%; (j) TiCl₄, DCM, 0 °C→rt 0.5 h, 75%; (k) BzCl, Et₃N, DMAP, 4 h, 92%; (l) Ac₂O, Et₃N, DMAP, 24 h, 88%.

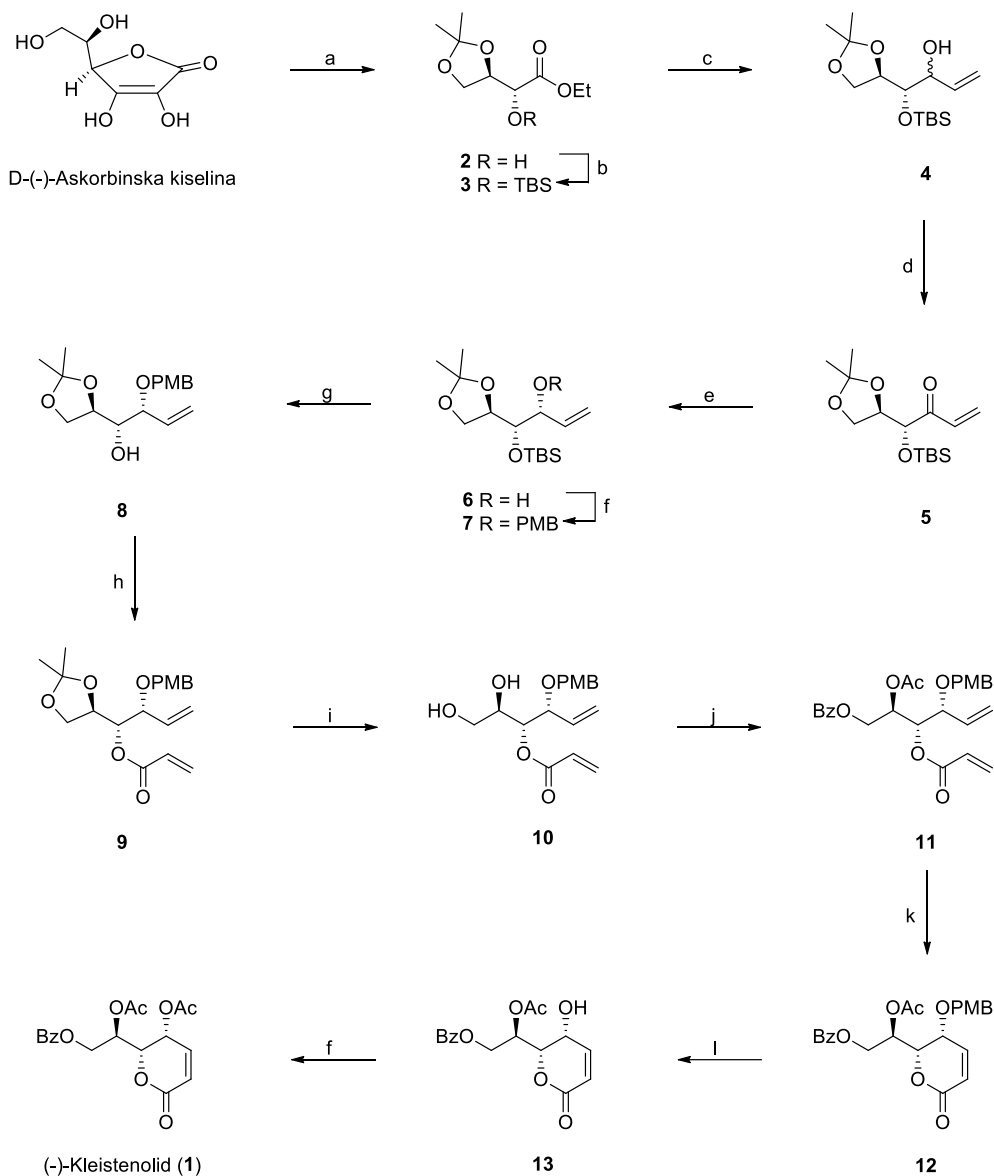
Primenom poznatog postupka²⁷ D-(+)-manitol je preveden u (R)-glicerinaldehid acetonid (**2**) koji potom u reakciji sa Zn i alil bromidom u smesi THF-a i zasićenog rastvora NH₄Cl tokom 6 h, daje anti-homoalilni alkohol **3** u prinosu od 90%. Eterifikacijom sekundarnog alkohola **3** dejstvom MOMCl i DIPEA u dihlorometanu (0 °C, 2 h), dobija se odgovarajući etar **4** u prinosu od 92%. Sharpless-ovom asimetričnom dihidroksilacijom etra **4** sa OsO₄/NMO u aq Me₂CO tokom 4 h na sobnoj temperaturi, dobija se intermedijerni diol koji je bez izolacije oksidovan sa NaIO₄ (rt, 2 h), pri čemu se dobija aldehid **5** u prinosu od 92%. Metodom α-amino oksidacije aldehida sa nitrozobenzenom i D-prolinom u DMSO na niskoj temperaturi uz naknadno dodavanje NaBH₄ u MeOH, dobijen je diol **6** u prinosu od 70%. Primarna alkoholna grupa diola **6** je selektivno

zaštićena dejstvom TBSCl u DCM i imidazolom kao bazom, dok je nastali intermedijerni silil etar tretiran sa BnBr, (NaH, TBAI) u tetrahidrofuranu (0 °C→rt, 2 h), pri čemu nastaje benzilovani etar **7** u prinosu od 88%. Dejstvom TBAF-a u tetrahidrofuranu (0 °C→rt) na jedinjenje **7**, uklonjena je sililna zaštitna grupa pri čemu se dobija odgovarajući alkohol **8** u prinosu od 85%. Oksidacijom alkohola **8** sa IBX u smesi DMSO/DCM tokom 3 h na sobnoj temperaturi, nastaje intermedijerni aldehid **8a** (nije prikazan na shemi), koji se Horner–Wadsworth–Emmons-ovom (HWE) reakcijom sa (CF₃CH₂O)₂P(O)CH₂CO₂CH₃ u tetrahidrofuranu, u prisustvu NaH, prevodi u *Z*-olefin **9** u prinosu od 75%. Jednopoteznom reakcijom jedinjenja **9** sa CeCl₃·7H₂O u acetonitrilu (refluks, 12 h), uklanja se izopropilidenska i MOM etarska zaštitna grupa uz laktonizaciju jedinjenja **9**, pri čemu se dobija lakton **10** u prinosu od 65%. Dejstvom TiCl₄ u dihlorometanu lakton **10** je debenzilovan, pri čemu je dobijen triol **11** u prinosu od 75%. Selektivnom esterifikacijom primarne alkoholne grupe sa BzCl (jedinjenje **12**, 92%) i naknadnim acetilovanjem preostalih alkoholnih grupa sa Ac₂O i (Et₃N, DMAP) na sobnoj temperaturi, dobijen je finalni (–)-kleistenolid (**1**) u prinosu od 88%. Konačni prinos (–)-kleistenolida (**1**) koji je dobijen iz deset sintetičkih faza je bio 10%.

Iste 2011. godine, Babu *et al.*⁹ su sintetizovali (–)-kleistenolid (**1**), a kao polazno jedinjenje je poslužila D-(–)-askorbinska kiselina (*Shema 2.2.4.*).

Poznatom metodom D-(–)-askorbinska kiselina je prvo prevedena literaturno opisanim primerom u poznati α -hidroksi estar **2**²⁸. Sekundarna slobodna alkoholna grupa je zaštićena u obliku odgovarajućeg *tert*-butilsilil etra, dejstvom TBSCl i imidazola u dihlorometanu na sobnoj temperaturi tokom 2 h, pri čemu nastaje sililni etar **3** u prinosu od 94%. Metil estar etra **3** je selektivno redukovano do intermedijernog aldehida sa DIBALH-om u dihlorometanu na niskoj temperaturi (–78 °C) tokom 0.5 h, koji nije izolovan već je odmah dalje tretiran sa vinil magnezijum bromidom (0 °C→rt, 3 h), pri čemu je dobijen alilni alkohol **4** u prinosu od 73%. Alilni alkohol **4** je oksidovan dejstvom IBX-a u DMSO na sobnoj temperaturi tokom 3 h, pri čemu je dobijen keto derivat **5** u prinosu od 96%. Selektivnom redukcijom ketona **5** sa K-selektridom na niskoj temperaturi (–78 °C, 6 h→–40 °C) u toluenu, nastaje alilni alkohol **6** u visokom prinosu od 91%. Alilni alkohol **6** je preveden u odgovarajući benzil etar **7** u prinosu od 84%, dejstvom PNBBR i NaH-a u anhidrovanom tetrahidrofuranu na sobnoj temperaturi tokom 2 h. Dejstvom TBAF-a u tetrahidrofuranu na sobnoj temperaturi u toku 2 h, uklonjena je sililna zaštita iz **7**, a kao proizvod je dobijen sekundarni alkohol **8** u prinosu od 96%. Esterifikacijom alkohola **8** sa akrilol hloridom i Et₃N (0 °C→rt, 4 h) u dihlorometanu, dobijen je dien **9** (86%). Izopropilidenska zaštita iz jedinjenja **9** je uklonjena sa *Dowex-50* (H⁺) u metanolu na sobnoj temperaturi, dajući diol **10** u prinosu od 95%. Selektivnim benzoilovanjem sa BzCl (0 °C, 3 h) i naknadnim acetilovanjem Ac₂O (0 °C→rt,

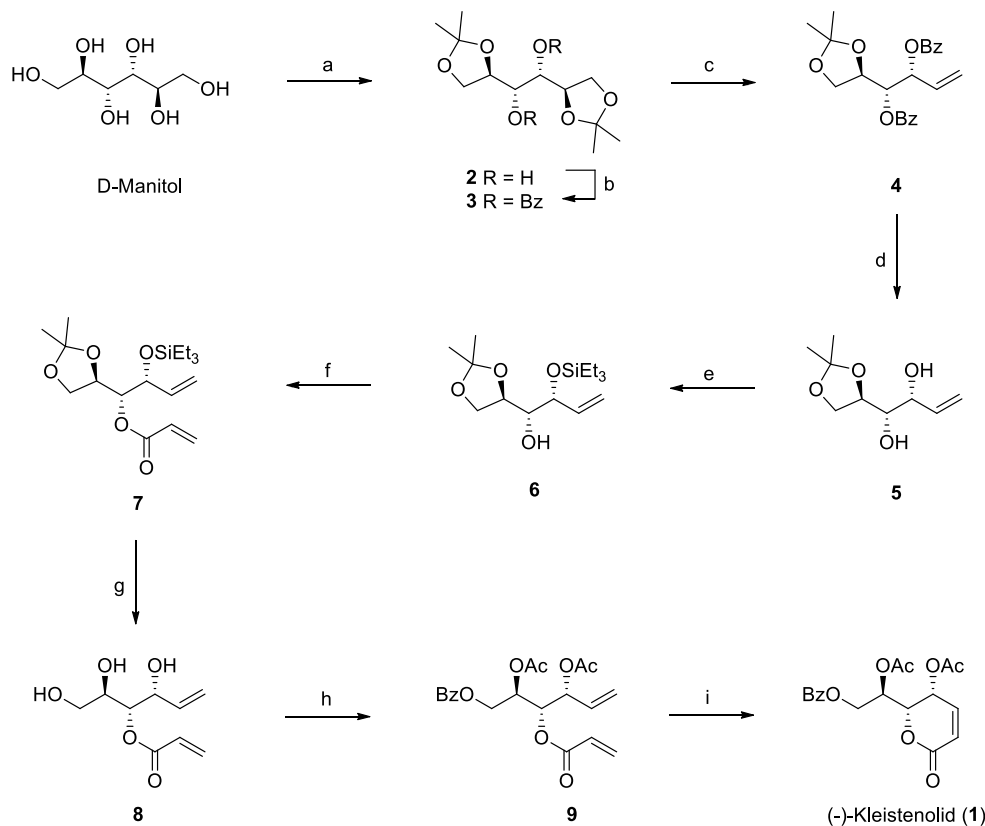
12 h) u smesi dihlorometana i piridina, diol **10** je preveden u estarski derivat **11** sa prinisom od 85%. Dejstvom *Grubbs* II katalizatora (5 mol%) u ključalom dihlorometanu u toku 24 h ostvareno je zatvaranje prstena u jedinjenju **11**, pri čemu se dobija lakton **12** u prinosu od 69%. Preostala zaštitna grupa (PMB) u jedinjenju **12** je uklonjena dejstvom DDQ-a u pufersanom dihlorometanu tokom 1 h, pri čemu se dobija alkohol **13** u prinosu od 88%.



Shema 2.2.4. (a) *Ref 26*, 81%; (b) TBSCl, imidazol, DCM, 2 h, rt, 94%; (c) DIBALH, DCM, $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$, 0.5 h, potom vinil magnezijum bromid, $0\text{ }^{\circ}\text{C}\rightarrow\text{rt}$, 3 h, 73%; (d) IBX, DMSO, rt, 3 h, 96%; (e) K-Selektrid, toluen, $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$, 6 h $\rightarrow -40\text{ }^{\circ}\text{C}$, 91%; (f) PMBBBr, NaH, THF, rt, 1 h, 84%; (g) TBAF, THF, rt, 2 h, 96%; (h) akriloil hlorid, Et_3N , DMAP, rt, 4 h, 86%; (i) DOWEX-50 (H^+), MeOH, rt, 6 h, 95%; (j) piridin, BzCl, Ac_2O , DCM, $0\text{ }^{\circ}\text{C}$, 3 h \rightarrow rt, 12 h, 85%; (k) *Grubbs* II katalizator (5mol%), DCM, refluks, 12 h, 69%; (l) DDQ, fosfatni puffer, DCM (9:1), rt, 2 h, 88%; (f) Ac_2O , piridin, DCM, rt, 2 h, 89%.

Doacetilovanje alkohola **13** sa Ac_2O u smesi dihlorometana i piridina ($0\text{ }^{\circ}\text{C}\rightarrow\text{rt}$, 4 h) daje (-)-kleistenolid (**1**) u prinosu od 90%. Konačni prinis prirodnoga proizvoda (-)-kleistenolida (**1**) koji je dobijen iz dvanaest sintetičkih faza je bio 18%.

Tokom 2011. godine, Venkateswarlu *et al.*¹⁰ su publikovali novu sintezu (-)-kleistenolida (**1**) iz D-(+)-manitola (Shema 2.2.5.).

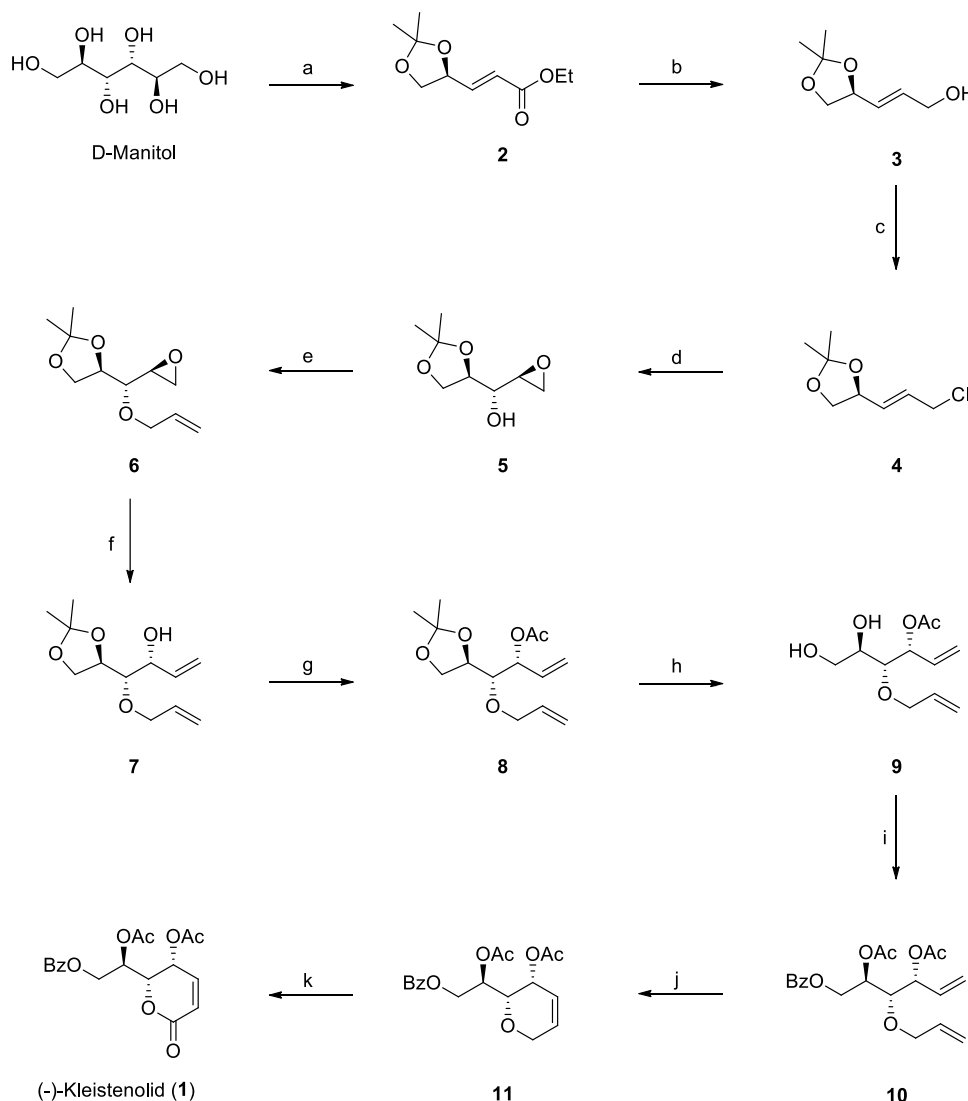


Shema 2.2.5. (a) $\text{Me}_2\text{C}(\text{OMe})_2$, DMSO, TsOH, 6 h, rt, 79%; (b) Et_3N , BzCl, DCM, 50 °C, 6 h, 91%; (c) H_5IO_6 , Et_2O , rt, 6 h, NaHCO_3 , potom $t\text{-BuOK}$, $\text{Ph}_3\text{PCH}_3\text{Br}$, THF, -10 °C, 4 h, 71%; (d) K_2CO_3 , MeOH, rt, 3 h, 91%; (e) Et_3SiCl , imidazol, DMAP, DCM/DMF 1:1, -78 °C, 1 h, 90%; (f) akriloil hlorid, Et_3N , DCM, rt, 4 h, 84%; (g) *Dowex-50* (H^+), MeOH, rt, 6 h, 94%; (h) BzCl, piridin, Ac_2O , 0 °C → rt, 7 h, 85%; (i) *Grubbs II* (5 mol %), DCM, refluks, 5 h, 85%.

Dejstvom DMP-a i *p*-TSA u DMSO, D-(+)-manitol je na sobnoj temperaturi preveden u diacetamid **2** (79%). Slobodne hidroksilne grupe diola **2** su benzoilovane dejstvom BzCl i trietilamina u DCM uz zagrevanje na 50 °C tokom 6 h, pri čemu nastaje di-*O*-benzoil derivat **3** u prinosu od 91%. Terminalna izopropilidenska grupa u jedinjenju **3** je potom oksidativno raskinuta dejstvom H_5IO_6 u etru (0 °C → rt) tokom 6 h, a intermedijerno dobijeni aldehid se Wittig-ovom reakcijom ($\text{Ph}_3\text{PCH}_3\text{Br}$, $t\text{-BuOK}$) u THF na -10 °C prevodi u alken **4** (71%). Uklanjanje benzoatnih zaštitnih grupa je urađeno baznom hidrolizom ($\text{K}_2\text{CO}_3/\text{MeOH}$) na sobnoj temperaturi tokom 3 h, čime je jedinjenje **4** prevedeno u odgovarajući diol **5** u prinosu od 91%. Alilna hidroksilna grupa diola **5** je selektivno zaštićena dejstvom Et_3SiCl i imidazolom na -78 °C tokom 1 h u smesi DCM/DMF (1:1), pri čemu se dobija mono-silil etar **6** u prinosu od 90%. Esterifikacijom sekundarnog alkohola **6** sa akriloil hloridom i trietilaminom u DCM tokom 4 h na sobnoj temperaturi, nastaje odgovarajući akrilat **7** (84%). Uklanjanjem izopropilidenske i sililne grupe sa *Dowex-50* (H^+) u metanolu tokom 6 h na sobnoj temperaturi, nastaje triol **8** u prinosu od 94%. Selektivno benzoilovanje primarne

alkoholne grupe i naknadno doacetilovanje sekundarnih alkoholnih grupa je postignuto sukcesivnim dodavanjem BzCl i Ac₂O rastvoru triola **8** u smesi DCM i piridina (0 °C→rt) tokom 7 h, pri čemu nastaje estar **9** u prinosu od 85%. Laktonizacija jedinjenja **9** postignuta je upotrebom *Grubbs* II katalizatora na temperaturi refluksa u anh DCM tokom 5 h, a kao proizvod reakcije dobija se (-)-kleistenolid (**1**) u prinosu od 85%.

Tokom 2012. godine, Kumar *et. al.*¹¹ su takođe sintetizovali (-)-kleistenolid (**1**), a kao polazno jedinjenje upotrebljen je komercijalno dostupni (*S,E*)-etil-3(2,2-dimetil-1,3-dioksolan-4-il) akrilat (**2**) koji se može dobiti iz diacetonida D-manitola prema poznatom postupku²⁹ (*Shema 2.2.6.*).



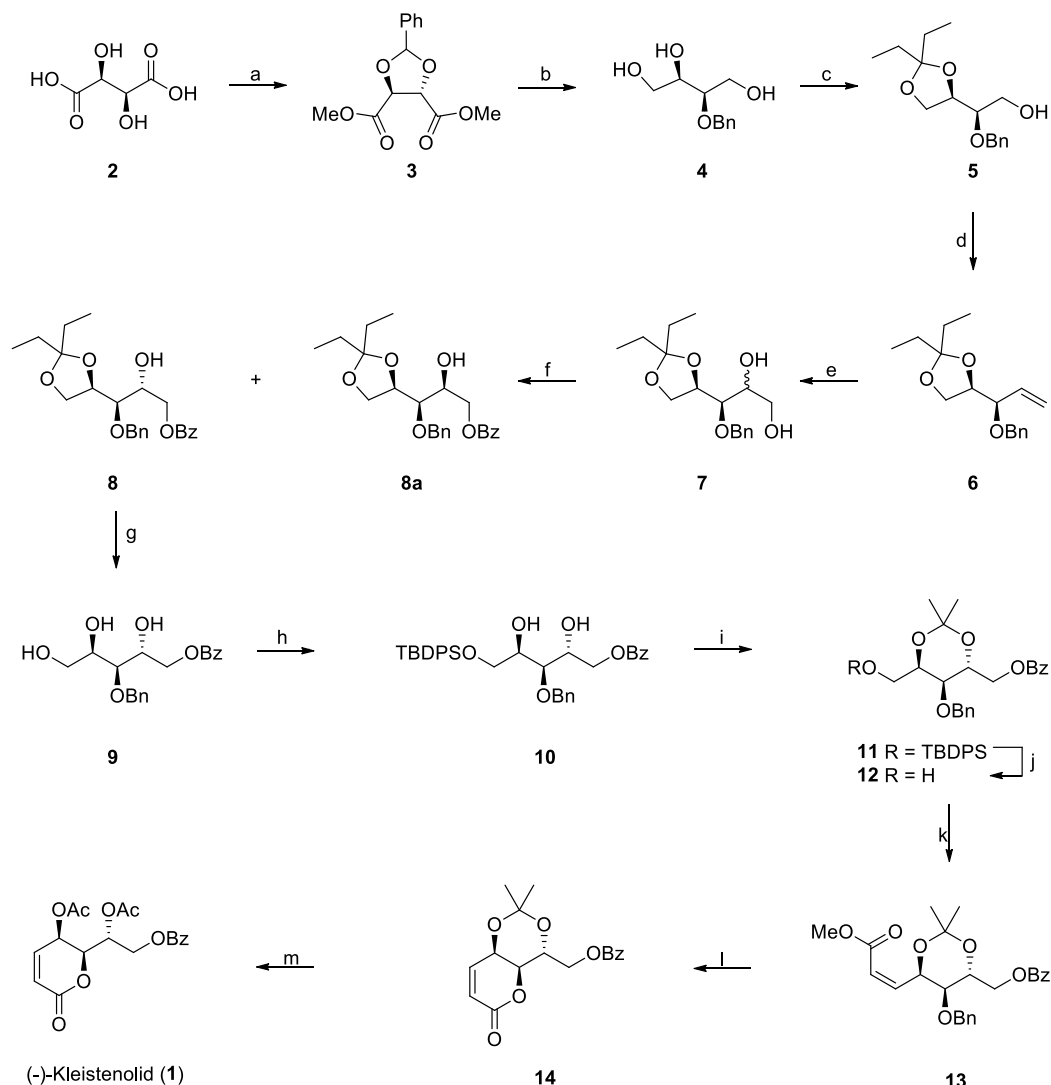
Shema 2.2.6. (a) *Ref 27*, 86%; (b) DIBALH, DCM, 0 °C, 3 h, 91%; (c) PPh₃, CCl₄, NaHCO₃, refluks, 6 h, 75%; (d) AD-miks-β, CH₃SO₂NH₂, NaHCO₃, tBuOH/H₂O, 0 °C, 24 h, zatim NaOH, THF, 0 °C→rt, 2 h, 79%; (e) alil bromid, NaH, THF, 0 °C→rt, 3 h, 95%; (f) (CH₃)₃S⁺I⁻, BuLi, -20 °C, 2 h, 94%; (g) Ac₂O, Et₃N, DMAP, DCM, 0 °C→rt, 1 h, 95%; (h) aq 60% AcOH, 0 °C→rt, 12 h, 90%; (i) Py, BzCl, DCM, 0 °C→rt, 4 h, potom Ac₂O, 0 °C→rt, 4 h, 71%; (j) *Grubbs* II, DCM, refluks, 0.5 h, 90%; (k) PCC, Py, DCM, refluks, 8 h, 72%.

Estarski derivat **2** je sa DIBALH-om u DCM preveden u alilni alkohol **3** u prinosu od 91%. Primenom Appel-ovog metoda, alkohol **3** u reakciji sa Ph_3P u CCl_4 na temperaturi ključanja tokom 6 h, daje alil hlorid **4** u prinosu od 75%. Sharpless-ovom asimetričnom dihidroksilacijom, alil hlorid **4** je u prisustvu AD-miks- β dao intermedijerni diol koji je potom dalje tretiran sa NaOH u anh THF-u, pri čemu se dobija epoksid **5** (79%). Eterifikacijom epoksida **5** sa alil bromidom i NaH u THF, nastaje alilni etar **6** u prinosu od 95%. Alkilovanjem epoksida **6** sa dimetilsulfonijum metilidom (Me_3SI , BuLi) na niskoj temperaturi ($-20\text{ }^\circ\text{C}$) dobija se alilni alkohol **7** (94%). Nakon acetilovanja slobodne alkoholne grupe sa Ac_2O u prisustvu trietilamina i DMAP-a, jedinjenje **7** je prevedeno u estar **8** (95%). Hidrolitičkim uklanjanjem terminalne izopropilidenske zaštitne grupe sa aq AcOH, jedinjenje **8** je prevedeno u diol **9** (75%). Selektivnom zaštitom primarne alkoholne grupe diola **9** sa BzCl u smesi Py/DCM, nastaje intermedijerni monobenzoat koji se sukcesivno acetiluje sa Ac_2O , pri čemu kao proizvod nastaje jedinjenje **10** u prinosu od 80%. Zatvaranjem di-olefinskog prstena jedinjenja **10** sa Grubbs II katalizatorom (5 mol %) u anh DCM na temperaturi ključanja tokom 0.5 h, dobija se jedinjenje **11** u prinosu od 90%. Nakon oksidacije jedinjenja **11** sa PCC u smesi DCM/Py na temperaturi ključanja tokom 8 h, nastaje finalni proizvod (–)-kleistenolid **1** u prinosu od 72%.

Polazeći od D-vinske kiseline, Ghogare *et al.*¹² su 2013. godine sintetisali prirodni (–)-kleistenolid (**1**) (Shema 2.2.7.).

Nakon tretmana D-vinske kiseline (**2**) sa SOCl_2 u MeOH, dobijen je intermedijerni metil estar koji je dalje reagovao sa dimetil acetalom benzaldehida u prisustvu *p*-TSA u ključalom cikloheksanu, pri čemu je nastao di-estara **3** u prinosu od 67%. Redukcijom di-estra **3** u prisustvu AlCl_3 i LAH uz reflux tokom 3 h, dobijen je triol **4** u prinosu od 70%. Acetalna zaštita terminalne diolne funkcije je urađena reakcijom sa 3-pentanonom u prisustvu kamfor sulfonske kiseline u THF uz reflux tokom 4 h, pri čemu se dobija jedinjenje **5** u prinosu od 80%. Monobenzilni derivat **5** se oksiduje Swern-ovom^{40,41} oksidacijom je intermedijerno dobijen aldehid, koji je potom tretiran sa metil trifenil fosfonijum bromidom u prisustvu kalijum *tert*-butoksida u tetrahidrofuranu na $0\text{ }^\circ\text{C}$, pri čemu se dobija olefin **6** u prinosu od 57%. Dihidroksilacija olefina **6** sa OsO_4/NMO u smesi $t\text{BuOH}/\text{H}_2\text{O}$ daje kao proizvod smesu diastereoizomernih diola **7** u prinosu od 96%. Nakon tretiranja smese diola **7** sa BzCl i DMAP-om u DCM/Py, dobijena je smesa diastereoizomernih alkohola **8** i **8a** u odnosu 8:1. Proizvod **8** koji je dominantni proizvod (90%) je dalje tretiran sa *p*-TSA u MeOH, pri čemu je dobijen benzoat **9** u prinosu od 90%. Selektivnom zaštitom primarne alkoholne grupe jedinjenja **9** sa TBDPSCl (imidazol/DMAP) u dihlorometanu na $0\text{ }^\circ\text{C}$ tokom 1 h, dobija se silil etar **10** u prinosu od 92%. Preostala diolna grupa jedinjenja **10**, je zaštićena dejstvom

2,2-dimetoksiopropana i *p*-TSA u acetonu na sobnoj temperaturi, pri čemu je dobijen potpuno zaštićen izopropilidenski benzoat **11** (86%). Deprotekcijom siline zaštite sa TBAF u tetrahidrofuranu na 0 °C tokom 1 h, derivat **11** je preveden u alkohol **12** u prinosu od 90%.



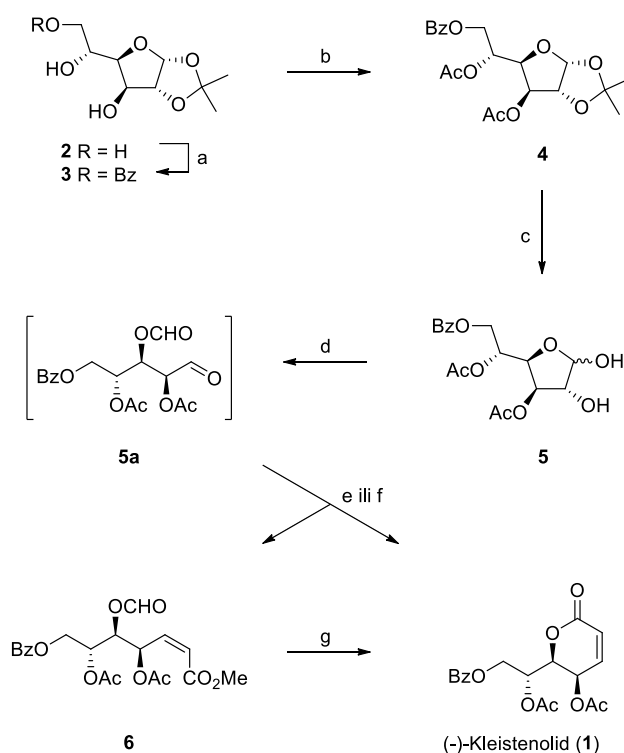
Shema 2.2.7. (a) SOCl_2 , MeOH, rt, 12 h, zatim dimetil acetal benzaldehida, *p*-TSA, cikloheksan, refluks, 6 h, 67%; (b) LAH, AlCl_3 , THF, $-30\text{ }^\circ\text{C}$, refluks, 3 h, 70%; (c) 3-pentanon, CSA, THF, refluks, 4 h, 80%; (d) Swern-ova^{38,39} oksidacija, $-78\text{ }^\circ\text{C}$, 2 h, potom $\text{Ph}_3\text{P}^+\text{CH}_3\text{Br}^-$, tBuOK , THF, $0\text{ }^\circ\text{C}$, 1,5 h, 57%; (e) OsO_4/NMO , $\text{tBuOH}/\text{H}_2\text{O}$, rt, 6 h, 96%; (f) BzCl , Py, DMAP, DCM, $0\text{ }^\circ\text{C}$, 0.5 h, 90%; (g) *p*-TSA, MeOH, rt, 0.5 h, 90%; (h) TBDPSCl, imidazol, DMAP, DCM, $0\text{ }^\circ\text{C}$, 1 h, 92%; (i) DMP, aceton, *p*-TSA, rt, 1 h, 86%; (j) TBAF, THF, $0\text{ }^\circ\text{C} \rightarrow \text{rt}$, 0.5 h, 90%; (k) Swern-ova^{38,39} oksidacija, $-78\text{ }^\circ\text{C}$, 2 h, potom $(\text{F}_3\text{CCH}_2\text{O})_2\text{P}(\text{O})\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Me}$, NaH, THF, $-78\text{ }^\circ\text{C}$, 1h, 90%; (l) Na, NH_3 , $-30\text{ }^\circ\text{C}$, 0.5 h, 85%; (m) TFA, DCM, $0\text{ }^\circ\text{C}$, 0.5 h, zatim Ac_2O , Py, DMAP, DCM, $0\text{ }^\circ\text{C}$, 0.5 h, 70%.

Nakon Swern-ove oksidacije jedinjenja **12**, dobijen je aldehyd koji je u uslovima Still-Gernari olefinacije dao *Z*-olefin **13** u prinosu od 90%. Redukcijom po Birch-ovoj metodi (Na/NH_3 u THF-u na $-30\text{ }^\circ\text{C}$), uklonjena je benzilna zaštita uz istovremenu ciklizaciju olefina **13**, pri čemu je dobijen lakton **14** u prinosu od 85%. Deprotekcijom izopropilidenske zaštite jedinjenja **14** sa TFA, dobijen

je intermedijerni diol koji nakon acetilovanja sa smesom $\text{Ac}_2\text{O}/\text{Py}$ (u prisustvu katalitičke količine DMAP) u DCM, daje (-)-kleistenolid (**1**) u prinosu od 70%.

Benedeković *et al.*¹³ su 2016. godine publikovali dve nove sinteze (-)-kleistenolida (**1**), korišćenjem komercijalnog monoacetonida glukoze (**2**) kao polaznog jedinjenja (Shema 2.2.8.).

Selektivnom esterifikacijom primarne alkoholne grupe monoacetonida D-glukoze (**2**) sa BzCl i piridinom u DCM na sobnoj temperaturi tokom 4 h, dobijen je 6-O-benzoilni estar **3** u prinosu od 75%. Acetilovanjem preostalih alkoholnih grupa jedinjenja **3** sa smesom $\text{Ac}_2\text{O}/\text{Py}$ u DCM, dobijen je triestar **4** sa prinosom od 98%. Uklanjanjem izopopilidenske grupe pri hidrolitičkim uslovima sa



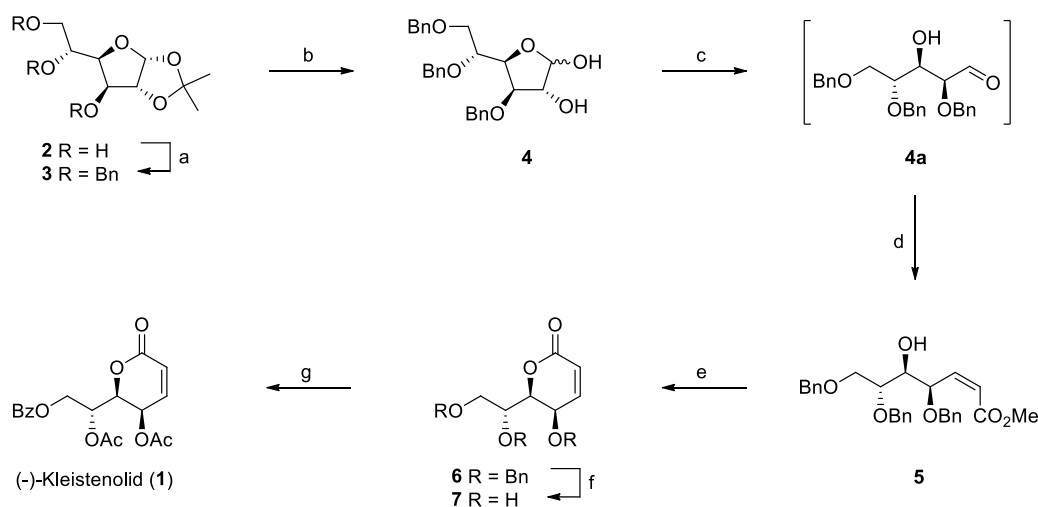
Shema 2.2.8. (a) BzCl , 1:1 DCM/Py, rt, 4 h, 75%; (b) Ac_2O , 1:1 DCM/Py, rt, 20 h, 98%; (c) aq 90% TFA, DCM, 0 °C →rt 2 h, 84%; (d) H_5IO_6 , aq EtOAc, 0 °C →rt 4.5 h; (e) MCMP, Et_3N , MeOH, N_2 , 0 °C, 2,5 h, **6**, 4% i **1**, 10% iz **5**; (f) $(\text{CF}_3\text{CH}_2\text{O})_2\text{P}(\text{O})\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Me}$, NaH, THF, Ar, -10 °C, 3 h, **6**, 25% i **1**, 13% iz **5**; (g) $p\text{-TSA}\times\text{H}_2\text{O}$, aq Py, rt, 5 d, 64%.

aq TFA u DCM (0 °C, 0.5 h →rt, 2 h), dobijen je laktol **5** u prinosu od 84%. Perjodnim oksidativnim raskidanjem 1,2-diola u laktolu **5** sa H_5IO_6 u aq EtOAc (0 °C, 0.5 h →rt, 4.5 h), dobijen je intermedijerni aldehid **5a** koji Z-selektivnom Wittig-ovom reakcijom sa stabilizovanim fosforanom $\text{Ph}_3\text{P}=\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Me}$ (MCMP) u prisustvu Et_3N , u aps MeOH, daje formilovani olefin **6** u prinosu od 4%, kao i finalni proizvod sinteze (-)-kleistenolid (**1**) u prinosu od 10%.

Efikasniji način dobijanja finalnog **1** je postignuto Horner-Wadsworth-Emmons-ovom reakcijom sa $(\text{CF}_3\text{CH}_2\text{O})_2\text{P}(\text{O})\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Me}$ u THF na niskoj temperaturi (-10 °C) tokom 3 h na intermedijerni aldehid **5a**, pri čemu se dobija Z-olefin **6** u prinosu od 25% i **1** 13%. Formilovani Z-olefin **6** se

prevodi u finalni (-)-kleistenolid (**1**), dejstvom *p*-TSA×H₂O u vodenom piridinu na sobnoj temperaturi tokom 5 dana u prinosu od 64%.

Veoma efikasna sinteza prirodnog proizvoda **1** (Shema 2.2.9.) opisana je u istom radu, a kao polazno jedinjenje je bio korišćen monoacetonid D-glukoze (**2**), koji je prvo preveden u odgovarajući tri-*O*-benzil etar **3** dejstvom BnBr i NaH u DMF-u (0 °C, 0.5 h→rt, 2 h), pri čemu je dobijeno jedinjenje **3** u prinosu od 97%. Nakon hidrolitičkog uklanjanja izopropilidenske zaštitne grupe iz jedinjenja **3** sa 50% aq TFA na sobnoj temperaturi tokom 18 h, dobijen je laktol **4** u prinosu od 83%. Perjodnom oksidacijom (H₅IO₆ u aq EtOAc, rt, 3 h), dobijen je intermedijerni aldehid **4a** koji *Z*-selektivnom Wittig-ovom reakcijom sa MCMP, u aps MeOH (0 °C, 1 h→rt, 22 h), daje (*Z*)-enoat **5** u visokom prinosu od 84%. Ciklizacijom (*Z*)-enoata **5** sa *p*-TSA×H₂O u DCM na sobnoj temperaturi tokom 96 h, dobijen je piranon **6** u prinosu od 94%. Totalnim debenzilovanjem jedinjenja **6** sa FeCl₃ u anh DCM na sobnoj temperaturi tokom 24 h, piranon **6** je preveden u triol **7** u prinosu od 64%. Završne faze sinteze su urađene „one pot” metodom, gde je sukcesivnim dodavanjem BzCl i Ac₂O u smesi DCM/Py na sobnoj temperaturi kao finalni proizvod dobijen (-)-kleistenolid (**1**) u prinosu od 81%.

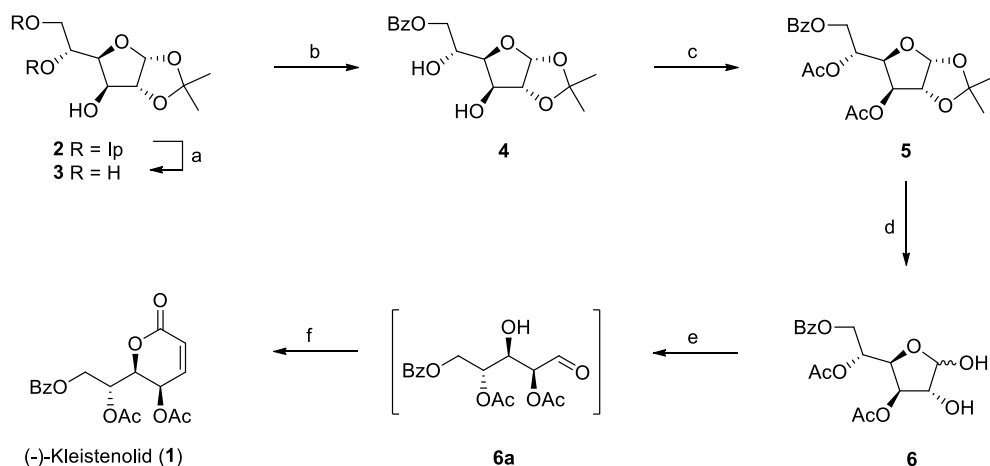


Shema 2.2.9. (a) BnBr, NaH, DMF, 0 °C 0,5 h→rt 2 h, 97%; (b) 50% aq TFA, rt, 18 h, 83%; (c) H₅IO₆, aq EtOAc, rt, 3 h; (d) MCMP, MeOH, 0 °C 1 h→rt 22 h, 84%; (e) *p*-TSA×H₂O, DCM, rt, 96 h, 94%; (f) FeCl₃, DCM, rt, 24 h, 64%; (g) BzCl, Py, DCM, rt, 4 h, zatim Ac₂O, rt, 20 h, 81%.

Potom su novu sintezu (-)-kleistenolida (**1**) ostvarili Reddy *et al.*¹⁴ 2016. godine, gde je kao polazno jedinjenje upotrebljen diacetonid D-glukoze (**2**) (Shema 2.2.10.).

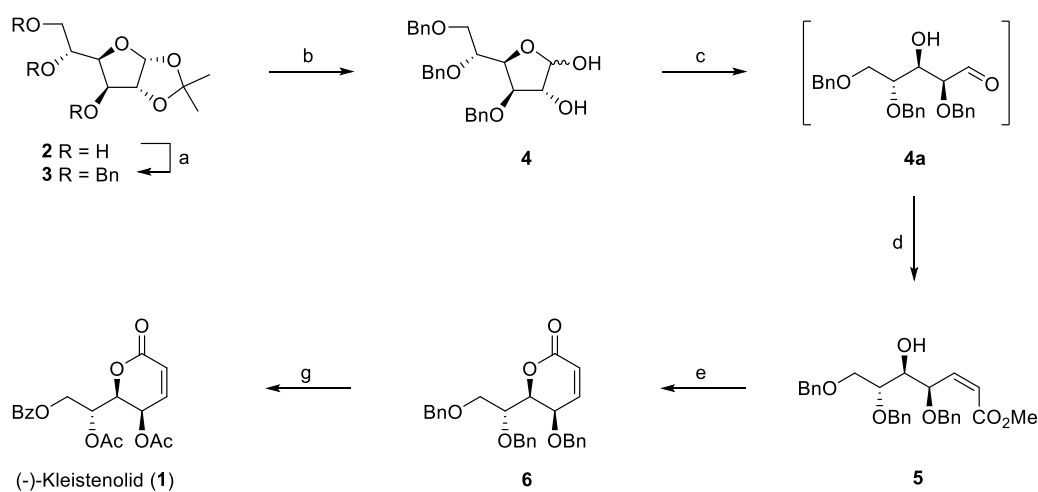
Polazni diacetonid D-glukoze (**2**) je zagrevanjem (60 °C) sa aq AcOH tokom 6 h, preveden u monoacetonid D-glukoze **3** u prinosu od 85%. Selektivno benzoilovanje samo primarne alkoholne grupe triola **3** je urađeno sa Bu₂SnO u aps MeOH tokom 10 h i naknadnim tretiranjem sa BzCl i DMAP-om u dioksanu tokom 16 h, pri čemu je triol **3** je preveden u 6-*O*-benzoat **4** u prinosu od

72%. Monobenzoat **4** je potom dioacetilovan sa Ac_2O u smesi DCM/Py ($0\text{ }^\circ\text{C}\rightarrow\text{rt}$, 2 h), pri čemu je dobijen diacetat **5** u prinosu od 92%. Uklanjanje izopropilidenske zaštite kiselim hidrolizom (66% aq TFA, rt, 3 h), ester **5** je dao očekivani laktol **6** u prinosu od 95%. Oksidativnim raskidanjem diolnog laktola **6** sa NaIO_4 u 90% vodenom acetonu na $0\text{ }^\circ\text{C}$ tokom 0.5 h, dobijen je intermedijerni aldehyd **6a** koji je potom HWE reakcijom sa $\text{MeO}_2\text{CCH}_2\text{P}(\text{O})(\text{OCH}_2\text{CF}_3)_2$ na niskoj temperaturi ($-78\text{ }^\circ\text{C}$) tokom 2 h, direktno dao finalni proizvod (-)-kleistenolid (**1**) u prinosu od 82%.



Shema 2.2.10. (a) 60% aq AcOH, $60\text{ }^\circ\text{C}$, 6 h, 85%; (b) Bu_2SnO , MeOH, refluks, 10 h, zatim BzCl, dioksan, rt, 16 h, 72%; (c) Ac_2O , Py, DCM, $0\text{ }^\circ\text{C}\rightarrow\text{rt}$, 2 h, 92%; (d) aq TFA, 95%; (e) NaIO_4 , 90% aq Me_2CO , rt, 0.5 h; (f) $\text{MeO}_2\text{CCH}_2\text{P}(\text{O})(\text{OCH}_2\text{CF}_3)_2$, NaH, THF, $-78\text{ }^\circ\text{C}$, 2 h, 82%.

Sledeća publikacija sinteze (-)-kleistenolida (**1**) je iz naše istraživačke grupe Benedeković *et al.*¹⁵ 2020. godine, a kao polazno jedinjenje upotrebljen je monoacetonid D-glukoze (**2**, *Shema 2.2.11.*).



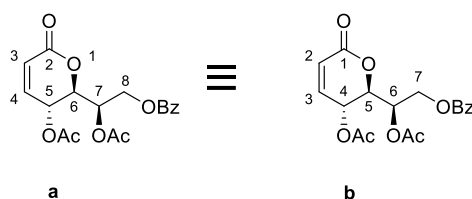
Shema 2.2.11. (a) i (b) *Ref.* 13, 80.5% iz 2 koraka; (c) H_5IO_6 , EtOAc, H_2O , rt, 2 h; (d) $\text{Ph}_3\text{P}=\text{CHCO}_2\text{Me}$, MeOH, $0\text{ }^\circ\text{C}$, 1 h, potom rt, 22 h, 92% iz **4**; (e) TsOH, CH_2Cl_2 , rt, 96 h, 94%; (f) FeCl_3 , BzOH, Bz_2O , rt, 24 h, potom AcBr, rt, 2 h, 96%.

Sinteza prirodnog proizvoda **1** je bila veoma efikasna modifikacija prethodno publikovane¹³ sinteze (*Shema 2.2.9.*) iz 2016. godine.

Poznatom procedurom¹³ monoacetonid D-glukoze (**2**) je preveden u laktol **4** u prinosu od 80.5%. Perjodnom oksidacijom (H₅IO₆ u aq EtOAc, sobna temperatura, 2 h), dobijen je intermedijerni aldehid **4a** koji je *Z*-selektivnom Wittig-ovom reakcijom sa MCMP, u aps MeOH (0 °C, 1 h→rt, 22 h), dao (*Z*)-enoat **5** u visokom prinosu od 92%. Ciklizacijom (*Z*)-enoata **5** sa *p*-TSA×H₂O u DCM na sobnoj temperaturi tokom 96 h, dobijen je piranon **6** u prinosu od 94%.

Primenom „*one pot*” metode izvršeno je selektivno debenzilovanje uz simultano acilovanje pogodnim supstratom jedinjenja **6** sa FeCl₃ kao katalizatorom u anh DCM na sobnoj temperaturi tokom 24 h sa (BzOH, Bz₂O), a potom sa AcBr (2h), pri čemu je dobijeno jedinjenje **1** u visokom prinosu od 96%. Prirodni proizvod (–)-kleistenolid (**1**) je ovom sintezom dobijen u šest sintetičkih faza sa konačnim prinosom od 67%.

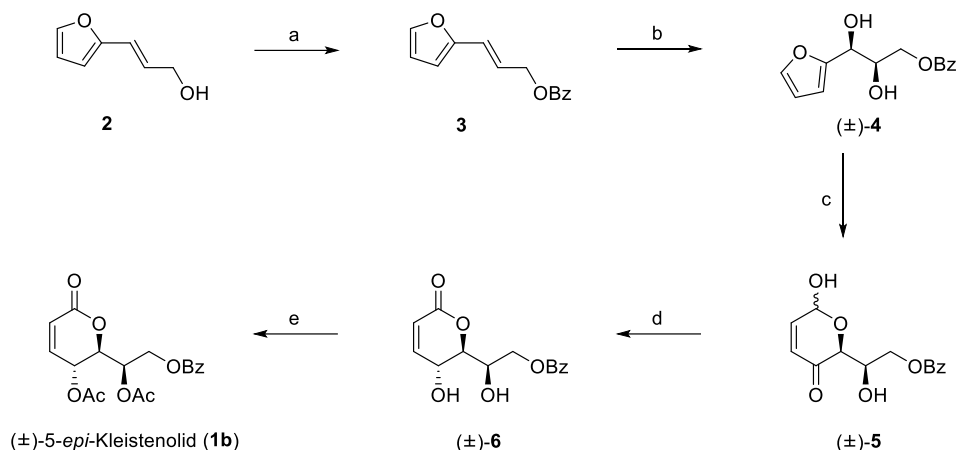
Grupa indijskih autora¹⁶ je 2014. godine publikovala do sada jedinu diastereoselektivnu sintezu jednoga od epimera (–)-kleistenolida (**1**), a to je (–)-6-*epi*-kleistenolida (**a**) po heterocikličnoj nomenkaturi, odnosno (–)-5-*epi*-kleistenolida (**b**) po monosaharidnoj nomenkaturi koja se upotrebljava i u pisanju ove doktorske disertacije (*Shema 2.2.12.*).



Shema 2.2.12. (a) Heterociklična nomenkatura; (b) Monosaharidna nomenkatura.

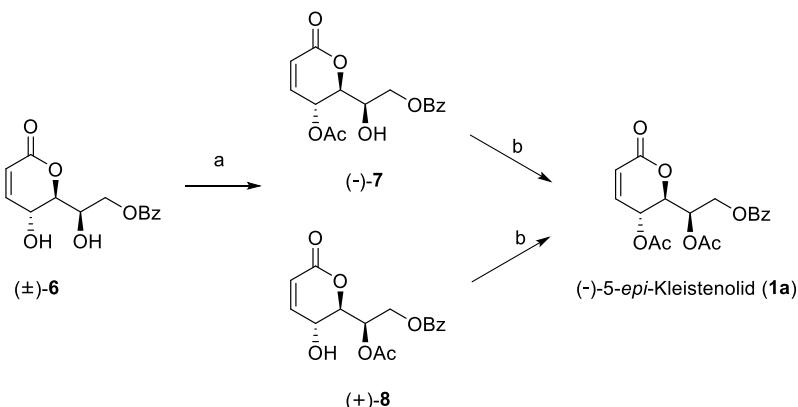
Sinteza započinje (*Shema 2.2.13.*) benzoilovanjem (BzCl, Py, DCM, 0 °C, 1 h→rt, 3.5 h) komercijalno dostupnog furilalil alkohola **2** pri čemu se dobija estar **3** u prinosu od 98%. Alilni benzoat **3** je potom podvrgnut Upjohn dihidroksilaciji (OsO₄, NMO, 0 °C→rt, 12 h) u smesi tri rastvarača MeCN/THF/H₂O (4:2:1) dajući furanski diol (±)-**4** u prinosu od 88%.

U uslovima standardne Achmatowicz reakcije (NBS, NaOAc, NaHCO₃, THF/H₂O (4:1), 0 °C, 2 h), jedinjenje (±)-**4** je bilo prevedeno u dihidropiranon (±)-**5** u prinosu 95%. Hemoselektivnom Fieser-ovom oksidacijom jedinjenja (±)-**5** sa CrO₃ u sirćetnoj kiselini na sobnoj temperaturi tokom 0.5 h i potom redukcijom sa NaBH₄ (*i*-PrOH, –20 °C, 5 h) dobijen je diol (±)-**6** u prinosu od 76%. Dobijeni diol (±)-**6** je zatim totalno acetilovan sa Ac₂O u piridinu na sobnoj temperaturi tokom 3 h, pri čemu je dobijen finalni (±)-5-*epi*-kleistenolid (**1b**) kao diastereoselektivna smesa u prinosu od 97%.



Shema 2.2.13. (a) BzCl, Py, DCM, 0 °C, 1h→rt, 3 h, 98%; (b) OsO₄, NMO, MeCN/THF/H₂O (4:2:1), 0 °C→rt, 12 h, 88%; (c) NBS, NaOAc, NaHCO₃, THF/H₂O (4:1), 0 °C, 2 h, 95%; (d) CrO₃, AcOH, rt, 0.5 h potom *i*PrOH, NaBH₄, -20 °C, 5h, 76%; (e) Ac₂O, Py, rt, 3 h, 97%.

Nakon hemoenzimskog razdvajanja 1,3-diola (±)-**6** sa lipazom PS „Amano” kroz transesterifikaciju sa vinil acetatom, dobijena su dva lako razdvojiva monoacilovana proizvoda (-)-**7** (23%) i (+)-**8** (20%). Doacilovanje preostale slobodne alkoholne funkcije u **7** i **8** je urađeno sa Ac₂O u piridinu na sobnoj temperaturi tokom 3h, pri čemu je dobijen finalni (-)-5-*epi*-kleistenolid (**1a**) u prinosu od 98% (*Shema 2.2.14.*).



Shema 2.2.14. Hemoenzimatska sinteza (-)-5-*epi*-kleistenolida (**1a**) (a) Lipaza PS „Amano” SD, aceton/benzen/n-heksan (1:1:2), vinil acetat, rt, 7 d, 23% za **7** i 20% za **8**; (b) Ac₂O, Py, rt, 3 h, 98%.

Prethodno diskutovani autori su ostvarili diastereoselektivnu sintezu (-)-5-*epi*-kleistenolida (**1a**), a mi smo si dali zadatak da u ovaj disertaciji osmislimo i jednu jednostavnu stereoselektivnu sintezu istoga epimera u cilju poređenja njegove biološke aktivnosti sa prirodnim proizvodom (-)-kleistenolid (**1**) i to će biti prezentovano u poglavlju „Naši radovi”.

Zbog planiranih detaljnijih bioloških ispitivanja (-)-kleistenolida (**1**) i njegovih analoga jedan od ciljeva je bio da se osmisle što jednostavnije, efikasnije i ekonomičnije sinteze prirodnog proizvoda **1**. Naša istraživačka grupa je tokom 2015. godine pre samog početka rada na sintezi (-)-kleistenolida (**1**) i njegovih analoga, prvo pristupila analizi svih prethodno objavljenih radova, kako

u smislu broja primenjenih sintetičkih faza, korišćenog polaznog materijala, ali i postignutog ukupnog prinosa finalnog proizvoda **1**. Rezultati ove analize su sumirani u radu master radu *Bešker*³⁷ za period do 2016. godine. Zatim su ti rezultati dopunjeni za potrebe rada na ovoj doktorskoj disertaciji novim rezultatima kako naše istraživačke grupe, tako i stranih naučnika za period 2016-2022. godine. Upotrebljenim sveobuhvatnim pristupom, postigli smo da ova doktorska disertacija ima formu svojevrsnog pregleda svega postignutog na polju sinteza prirodnog proizvoda (–)-kleistenolida (**1**) i nekog od njegovih analoga. Kompletni pregled do sada ostvarenih sinteza **1** je dat u *Tabeli 2.1.*. Postignuti vrhunski rezultati pojedinih autora (2 i 10; *Tabela 2.1.*) do 2016. godine su predstavljali svojevrsni izazov da postignemo što bolje rezultate što smo na kraju i uspeali tokom 2020. godine¹⁵. Zbog preglednosti i celovitosti prikaza na jednom mestu, uneti su i rezultati publikacija koje su proizašle iz ovoga rada (*Tabela 2.1.*).

Nakon izvršene i prethodno diskutovane analize svih postignutih rezultata na polju sinteze prirodnog proizvoda (–)-kleistenolida (**1**), moglo je da se pristupi ostvarenju planiranih ciljeva ove teze u smislu sinteze odgovarajućih C-4, C-5 i C-6 analoga i ispitivanju njihove antiproliferativne i antimikrobne aktivnosti, što je prikazano detaljno u poglavlju „Naši radovi”.

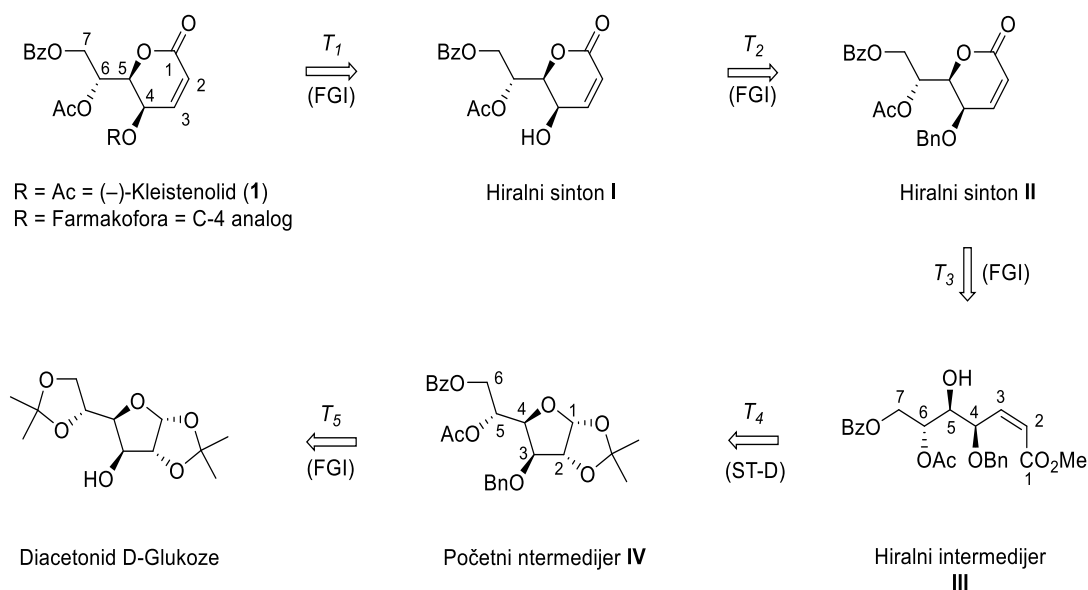
Tabela 2.1. Prikaz polaznih jedinjenja, broja sintetičkih faza i finalnih prinosa do sada ostvarenih sinteza prirodnog proizvoda (–)-kleistenolida (**1**).

R.Br.	Referenca	Publikovano polazno jedinjenje	Stvarno polazno jedinjenje	Publikovani broj sintetičkih faza	Stvarni broj sintetičkih faza	Publikovani prinos	Stvarni prinos
1.	Schmidt <i>et al.</i> <i>J. Org. Chem.</i> 2010 , 5, 2389.	(<i>R,R</i>)-1,5-heksadien-3,4-diol	Komercijalni D-manitol	6	9	18%	6.6%
2.	Chao <i>et al.</i> <i>J. Org. Chem.</i> 2010 , 75, 5754.	Komercijalna D-arabinoza	—	8	8	49%	25%
3.	Ramesh <i>et al.</i> <i>Tetrahedron Lett.</i> 2011 , 52, 2443;	Komercijalni D-manitol	—	9	10	12.4%	4.3%
4.	Babu <i>et al.</i> <i>Helv. Chim. Acta</i> 2011 , 94, 2215;			9	9	23%	23%
5.	Reddy <i>et al.</i> <i>Tetrahedron Lett.</i> 2011 , 52, 2306.			Komercijalni 1,2:5,6- <i>bis</i> -acetamid D-manitola	10	11	10%
6.	Babu <i>et al.</i> <i>Tetrahedron</i> 2011 , 67, 3815.	(<i>R</i>)-Etil-2-(hidroksi)-((<i>R</i>)-2,2-dimetil 1,3-dioksolan-4-il) acetat	Komercijalna D-(–)-izoaskorbinska kiselina	12	13	18%	14.7%
7.	Kumar <i>et al.</i> <i>Tetrahedron Lett.</i> 2012 , 53, 1823.	Komercijalni (<i>S,E</i>)-etil-3 (2,2-dimetil-1,3-dioksolan-4-il) akrilat	—	10	10	19%	19%
8.	Ghogare <i>et al.</i> <i>Tetrahedron Lett.</i> 2013 , 54, 5674.	Komercijalna D-tartarna kiselina	—	17	17	7.9%	7.9%
9.	Benedeković <i>et al.</i> <i>Bioorg. Med. Chem. Lett.</i> 2016 , 26, 3318.	Komercijalni monoacetamid D-glukoze	—	Dve sinteze 6 i 7	Dve sinteze 6 i 7	17.9% i 33%	17.9% i 33%
10.	Reddy <i>et al.</i> <i>Tetrahedron: Asymmetry</i> 2016 , 27, 788	Komercijalni diacetamid D-glukoze	—	6	6	42.5%	41%
11.	Benedeković <i>et al.</i> <i>European Journal of Medicinal Chemistry.</i> 2020 , 202, 112597.	Komercijalni monoacetamid D-glukoze	—	6	6	66%	66%
12.	Benedeković <i>et al.</i> <i>Bioorganic Chemistry.</i> 2021 , 106, 104491.	Komercijalni diacetamid D-glukoze	—	Dve sinteze 9 i 7	Dve sinteze 9 i 7	17.4% i 44%	17.4% i 44%

3 NAŠI RADOVI

3.1 Strategija sinteze i izbor polaznog materijala

Kao što je u uvodnom delu navedeno, strategija sinteze (–)-kleistenolida (**1**) je zasnovana na konceptu hiralnih templatata,⁴ koji podrazumeva uspostavljanje stereochemijskih korelacija između ciljnog molekula (–)-kleistenolida i pogodnog pristupačnog hiralnog molekula – potencijalnog polaznog jedinjenja (*hiralni prekursor*). Da bi ispunili pomenute ciljeve doktorske disertacije iz uvodnog dela, morali smo smisliti dva retrosintetička plana, prvi koji bi pružio mogućnost sinteze C-4 analoga i drugi koji bi bio optimalan za dobijanje C-6 analoga prirodnog proizvoda (–)-kleistenolida. Analizom našeg prethodnog rada,³⁷ došli smo do saznanja da poznati retrosintetički plan može biti iskorišćen za sintezu C-4 analoga uz izvesne manje izmene. Retrosintetička analiza (–)-kleistenolida (**1**) i njegovih C-4 analoga, pomoću koje su njihove strukture korelisane sa strukturom komercijalno dostupnog diacetonida D-glukoze, prikazana je na *Shemi 3.1.*

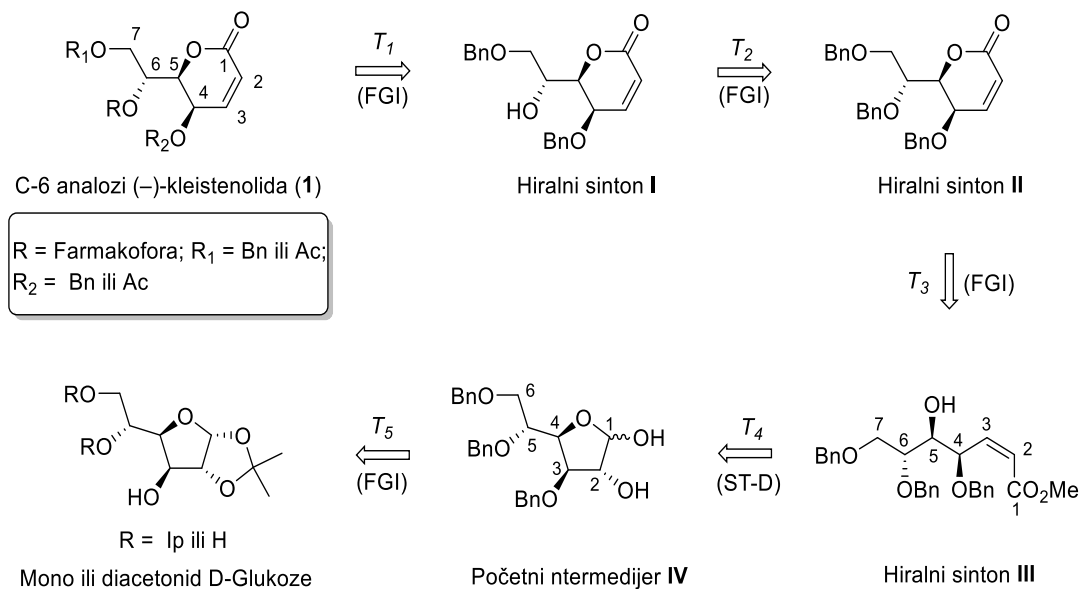


Shema 3.1. Retrosintetička analiza (–)-kleistenolida i njegovih C-4 analoga

U saglasnosti sa uobičajnom metodologijom retrosinteze, iz strukture (–)-kleistenolida (**1**) su postepeno uklanjani pojedini strukturni fragmenti bez promene njegove inherentne stereochemije.⁴ Prva faza retrosinteze (T_1) predstavlja transform za interkonverziju funkcionalnih grupa (FGI)²⁸ koja je vodila do hiralnog sintona **I** sa slobodnom alkoholnom grupom na C-4 i sačuvanom konfiguracijom C₄–C₇ hiralnog segmenta. Primenom sledećeg transforma za interkonverziju

funkcionalnih grupa (T_2) struktura **I** je korelisana sa pogodno zaštićenim hiralnim sintonom **II** uz očuvanje svih hiralnih centara intermedijera **I**. Pri tome je pretpostavljeno da se zaštitna grupa na C-4 može efikasno ukloniti i/ili zameniti odgovarajućom acetatnom ili drugom farmakoforom bez promene stereochemije hiralnog centra laktona **I**, analogno postojećim primerima koji su ranije opisani u dostupnoj literaturi.⁸ Primenom sledećeg transformata za interkonverziju funkcionalnih grupa (T_3), struktura **II** je korelisana sa acikličnim parcijano zaštićenim α,β -nezasićenim Z-olefinom **III** uz očuvanje svih hiralnih centara intermedijera **II**. Struktura **III** je zatim korelisana sa pogodno zaštićenom glukofuranozom **IV** pomoću transformata (T_4) za diskonekciju stereocentara (ST-D). Odgovarajući sintetički korak predstavlja ključnu fazu sinteze, dok je pretpostavljeno da se ona može realizovati Z-selektivnom^{29,30} Wittig-ovom reakcijom sa stabilizovanim ilidom, MCMP-om u metanolu na intermedijerno dobijeni aldehid koji je dobijen iz prethodno izolovanog hiralnog intermedijera **IV**. Primenom pojednostavljujućeg transformata (T_5) za interkonverziju funkcionalnih grupa, struktura **IV** je dalje korelisana sa istom od diacetonida D-glukoze.

Retrosintetička analiza za C-6 analoge (-)-kleistenolida (**1**) pomoću koje je njihova struktura korelisana sa istom kod komercijalno dostupnog mono ili diacetonida D-glukoze, prikazana je na *Shemi 3.1.1.*



Shema 3.1.1. Retrosintetička analiza za C-6 analoge (-)-kleistenolida (**1**).

Saglasno metodologiji retrosinteze, iz strukture C-6 analoga (-)-kleistenolida (**1**) su postepeno uklanjani pojedini strukturni fragmenti bez promene njegove inherentne stereochemije.⁴ Prva faza retrosinteze (T_1) predstavlja transform za interkonverziju funkcionalnih grupa (FGI)²⁸ koji vodi do

hiralnog sintona **I** sa nezaštićenom sekundarnom C-6 alkoholnom funkcionalnom grupom i sačuvanom konfiguracijom C₄–C₇ hiralnog segmenta.* Pri tome je pretpostavljeno da se C-6 funkcionalna grupa (odgovarajuća odabrana farmakofora) može efikasno uvesti esterifikacijom ili eterifikacijom bez promene stereochemije hiralnih centara laktona **I**. Primenom sledećeg transformata za interkonverziju funkcionalnih grupa (T₂), struktura **I** je korelisana sa odgovarajućim totalno zaštićenim hiralnim sintonom **II** pri čemu je pretpostavljeno da se sinton **I** može dobiti selektivnim debenzilovanjem C-6 benzilne zaštitne grupe po sličnim primerima⁴² iz literature. Struktura **II** je dalje korelisana acikličnim parcijano zaštićenim α,β -nezasićenim Z-olefinom **III** uz očuvanje svih hiralnih centara intermedijera **II**. Struktura **III** je zatim korelisana sa parcijalno zaštićenim laktolom glukofuranoze **IV** pomoću transformata (T₃) za diskonekciju stereocentara (ST-D). Odgovarajući sintetički korak predstavlja ključnu fazu sinteze, a pretpostavljeno je da se ona može realizovati Z-selektivnom⁴³⁻⁴⁵ Wittig-ovom reakcijom sa stabilizovanim ilidom, MCMP-om u metanolu na intermedijerno dobijeni aldehid koji je dobijen iz prethodno izolovanog hiralnog intermedijera **IV**. Primenom pojednostavljujućeg transformata (T₅) za interkonverziju funkcionalnih grupa, struktura **IV** je dalje korelisana sa mono ili diacetonidom D-glukoze.

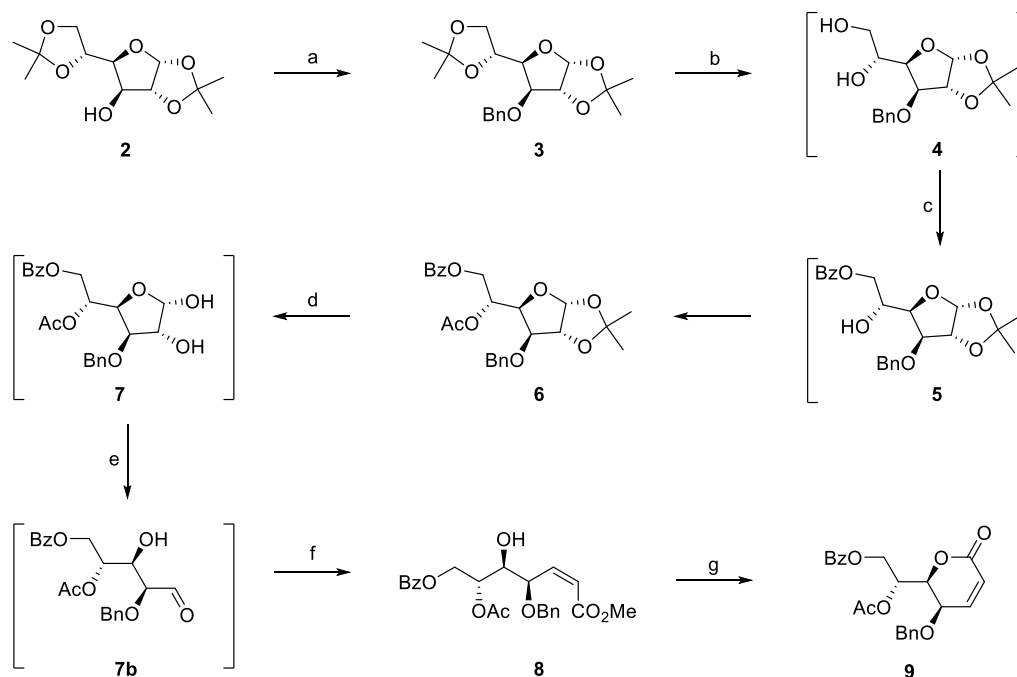
Na osnovu svega navedenog proizilazi da mono- ili diacetonid D-glukoze mogu da predstavljaju pogodan polazni materijal za dobijanje (–)-kleistenolida i njegovih C-4 i C-6 analoga, te su planirane sinteze zasnovane na primeni ovih derivata D-glukoze kao komercijalno dostupnih hiralnih prekursora.

* S obzirom da je planirana sinteza analoga (–)-kleistenolida zasnovana na D-glukozi kao hiralnom prekursoru, u ovom odeljku su C-atomi numerisani na način koji je uobičajen za monosaharide.

3.2 Sinteza (-)-kleistenolida (1) i njegovih C-4 analoga

Kao pogodno polazno jedinjenje u ovom radu primenjena je ekonomična i komercijalno pristupačna 1,2:5,6-di-*O*-Izopropiliden- α -D-glukofuranoza (**2**).

Višefazne hemijske transformacije jedinjenja **2** u ključni intermedijer **9** sumirane su na *Shemi* 3.2..

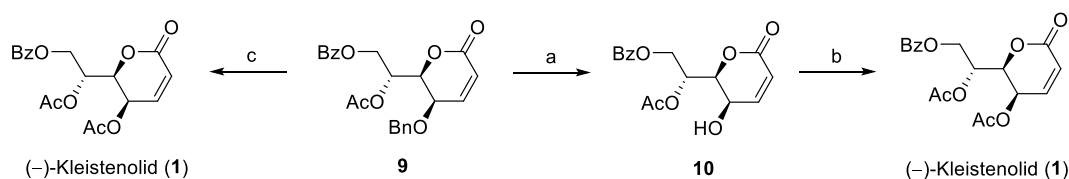


Shema 3.2. (a) NaH, BnBr, anh DMF, 0 °C 0.5 h → rt 2 h, 97%; (b) 60% aq AcOH, rt, 24 h; (c) BzCl, DMAP, anh CH₂Cl₂, rt 1 h, zatim AcCl, rt, 1 h, 83% **6** iz **3**; (d) 90% aq TFA, CH₂Cl₂, 0 °C 0.5 h → rt 2.5 h; (e) H₃IO₆, aq EtOAc, 0 °C 0.5 h → rt 3.5 h; (f), MCMP, aps MeOH, rt, 20 h, 52% **8** iz **6**. (g) cat *p*-TSA×H₂O, anh CH₂Cl₂, rt, 48 h, 90%

Sinteza počinje sa zaštitom slobodne hidroksilne grupe, dejstvom BnBr u anhidrovanom DMF i prisustvu natrijum-hidrida (0 °C, 0.5 h → rt, 2 h). Pri tome je dobijen poznati 3-*O*-benzil derivat **3** u prinosu od 97%. Hidrolitičko uklanjanje terminalne izopropilidenske grupe iz jedinjenja **3** je urađeno dejstvom aq 60% AcOH na sobnoj temperaturi pri čemu se dobija intermedijerni diol **4** koje se koristi za narednu fazu u sirovom stanju. Naredne dve sintetičke faze su urađene primenom „one-pot” postupka. Naime, sirovo jedinjenje **4** je rastvoreno u anhidrovanom dihlorometanu i sukcesivno tretirano sa BzCl i AcCl u prisustvu DMAP-a kao baze na sobnoj temperaturi, pri čemu je dobijen odgovarajući estar **6** u prinosu od 83% računato na polazno jedinjenje **3**. Sledeće tri sintetičke faze su urađene bez izolovanja intermedijera. Procedura započinje hidrolitičkim uklanjanjem preostale izopropilidenske zaštitne grupe dejstvom 90% aq TFA u dihlorometanu uz početno hlađenje na 0 °C tokom 0.5 h i dodatnim mešanjem na sobnoj

temperaturi 2.5 h, pri čemu se dobija intermedijerni laktol **7**. Sirovo jedinjenje **7** je potom tretirano perjodnom kiselinom u aq 50% EtOAc (0.5 h → rt 3.5 h) što vodi oksidativnom raskidanju 1,2-diolne funkcije i nastajanju intermedijernog aldehida **7b**. Poslednja sintetička faza iz ovoga dela sinteze je *Z*-selektivna Wittig-ova reakcija aldehida **7b** sa $\text{Ph}_3\text{P}=\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Me}$ (MCMP), u anh MeOH, na sobnoj temperaturi pri čemu je dobijen *Z*-olefin **8** u prinosu od 52% računato na polazni estar **6**. Aciklični olefin **8**, dejstvom katalitičkih količina *p*-TSA×H₂O u anh dihlorometanu na sobnoj temperaturi tokom 48 h, daje očekivani 6-člani lakton **9** (90%) sa odgovarajućom 5,6-dihidro-piran-2-onskom strukturom. Zbog potrebe da se što jednostavnije dođe do ključnog intermedijera **9** koji je potreban za planiranu sintezu *C*-4 analoga, prethodno smo objasnili samo sintezu **9** putem spojenih sintetičkih faza i „one pot” postupaka, a procedure za pojedinično dobijanje intermedijera **4**, **5** i **7** iz njihovih prekusora su napisane u poglavlju „Eksperimentalni deo”.

Na *Shemi 3.2.1.* su prikazane završne sintetičke faze koje podrazumevaju transformaciju benzilnog intermedijera **9** u (–)-kleistenolid (**1**) i alkohol **10** koji će poslužiti za kasnije dobijanje *C*-4 analoga.



Shema 3.2.1. (a) TiCl_4 , anh CH_2Cl_2 , rt, 24 h, 77%; (b) *p*-TSA×H₂O, Ac_2O , rt, 4h, 95%; (c) FeCl_3 , AcBr, rt, 2 h, 81% ili $\text{Zn}(\text{OTf})_2$, AcBr, rt, 24h, 94%.

Lakton **9**, je dalje tretiran sa TiCl_4 u anhidrovanom dihlorometanu na sobnoj temperaturi tokom 24 h, pri čemu je uklonjena 4-*O*-benziletarska zaštita i dobijen odgovarajući sekundarni alkohol **10** u prinosu od 77%. Završna sintetička faza je urađena esterifikacijom alkohola **10** sa Ac_2O , u prisustvu katalitičke količine *p*-TSA×H₂O, na sobnoj temperaturi u toku 4 h pri čemu je dobijen prirodni proizvod (–)-kleistenolid **1** (95%), dok je finalni prinos nakon devet sintetičkih faza iznosio 17.4%. Rezultati prethodno opisane sinteze (–)-kleistenolida (**1**) su publikovani,⁴⁶ te je kasnije nastavljeno sa daljim radom u smislu optimizacije i eventualnog smanjenja broja sintetičkih faza sa ciljem povećanja finalnoga prinosa jedinjenja **1**.

Rezultat daljeg rada je upotreba „one pot” metoda za deprotekciju i sukcesivno acetilovanje intermedijera **9** čime je dobijeno finalno jedinjenje **1** u visokom prinosu bez upotrebe jedinjenja **10** kao intermedijera. Naime, benzilni intermedijer **9** je direktno preveden u (–)-kleistenolid (**1**) primenom Lewis-ovih kiselina (FeCl_3 ili $\text{Zn}(\text{OTf})_2$) i AcBr na sobnoj temperaturi u visokim prinosima 81% i 94%. Prirodni proizvod **1** je prethodno pomenutom modifikacijom dobijen u osam

sintetičkih faza i konačnom prinosu od 31% i 35% čime je dupliran konačni prinos jedinjenja **1** u odnosu na prethodno publikovan rad⁴⁶ (17.4% iz devet sintetičkih faza).

Na *Shemi* 3.2. uočava se da je ključni intermedijer u ovoj sintezi bio *Z*-olefin **5** koji odgovara hiralom intermedijeru **III** iz retrosintetičke sinteze prikazane na *Shemi* 3.1., a dobijen je Wittig-ovom reakcijom. Iako je Wittig-ova reakcija poznata više od šesdeset godina, do danas stvarni mehanizam ove reakcije nije u potpunosti potvrđen. Naime, različiti autori predlažu različite³³ mehanizme među kojima su najpoznatiji betainski, *SET* (*Single Electron Trasfer*) i cikloadicioni.

Naš supstrat **7b** pripada grupi alifatičnih aldehida koji poseduju β -heteroatom u odnosu na aldehidnu grupu. Posledica prisustva β -heteroatoma u strukturi aldehida je visoka *Z*-selektivnost Wittig-ove reakcije što je već uočeno u dostupnoj literaturi.^{31,32} Naime, visoka *Z*-selektivnost Wittig-ove reakcije MCMP-a na aldehidnu grupu molekula **7b** posledica je komplikovanih kombinovanih elektronskih, sternih i solvatacionih efekata, koji za posledicu imaju nastajanje takve intermedijerne betainske strukture u kojoj su maksimalno smanjene *cis*-(1,2 i 1,3) sterne i dipol-dipol³⁵ interakcije pri čemu se molekul dovodi u takvu geometriju da je nastajanje *cis*-oksofosfatana najverovatnija opcija sa posledicom nastajanja *cis*-olefina **8** kao dominantnog proizvoda. Spektroskopski podaci (*Tabela* 3.2.) i temperatura topljenja sintetizovanog (–)-kleistenolida **1** (tt 135 °C) su u saglasnosti sa dostupnim literaturnim podacima⁵ (tt 133–134 °C). Sa druge strane, dobijene vrednosti optičke rotacije $[\alpha]_D = -212.2$ (*c* 0.5, CHCl₃), se razlikuju od najbliže publikovane vrednosti {lit⁵ $[\alpha]_D = -164.6$ (*c* 0.48, CH₂Cl₂)}.

Tabela 3.2. NMR podaci za (–)-kleistenolid (**1**)

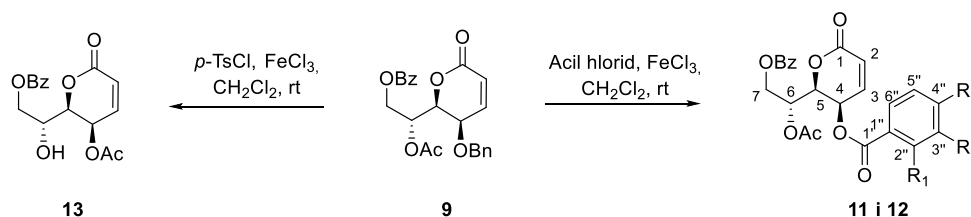
C/H	Naše vrednosti δ_H (J)	Lit ¹⁰ δ_H (J)	Naše vrednosti δ_C	Lit ¹⁰ δ_C
1	–	–	161.1	161.1
2	6.30 d (9.7)	6.29 d (9.7)	125.4	125.4
3	7.01 d (9.7, 6.1)	7.00 dd (9.6, 6.1)	139.7	139.7
4	5.44 dd (6.1, 2.7)	5.42 dd (6.0, 2.5)	59.8	59.7
5	4.82 dd (9.6, 2.7)	4.80 dd (9.6, 2.5)	75.5	75.5
6	5.53 ddd (9.6, 4.5, 2.4)	5.52 ddd (9.5, 4.0, 2.3)	67.7	67.7
7a	4.54 dd (4.5, 12.5)	4.53 dd (12.5, 4.4)	62.0	62.0
7b	4.94 dd (2.4, 12.5)	4.93 dd (12.5, 2.0)		
Me	2.06 and 2.11 (2×s)	2.04 and 2.09 (2×s)	20.5 i 20.7	20.5 i 20.7
MeCO	–	–	169.5 i 169.9	169.5 i 169.9
Ph	7.42–8.08	7.45–8.02	128.5, 129.6, 129.7, 133.3	128.5, 129.6, 129.7, 133.3
PhCO	–	–	166.0	166.0

Isto tako, u literaturi je publikovano^{5–14} više veoma različitih vrednosti optičke rotacije za prirodni proizvod **1** što je verovatno posledica korišćenja različitih uređaja ili različitih temperatura na kojima su izvedena merenja optičke rotacije.

Kao što je već pomenuto u uvodnom delu rada, pored totalne sinteze (–)-kleistenolida (**1**) i njegovih C-4 analoga, planirano je ispitivanje njihove antitumorske i antimikrobne aktivnosti. Dobijanje odgovarajućih analoga sa odabranim farmakoforama u položaju na C-4, postignuto je korišćenjem dva jedinjenja **9** i **10** čija sinteza je prikazana sa *Shemi 3.2.1.*. Naime, benzilni analog **9** se može direktno prevesti u odgovarajuće C-4 analoge jedinjenja **1** reakcijom sa odabranim acilhalogenidima u prisustvu Lewis-ovih kiselina kao katalizatora, dok se alkoholno jedinjenje **10** može direktno esterifikovati ili eterifikovati primenom odabranih hemijskih metoda o čemu će biti reči u daljem tekstu.

S obzirom na uspešne rezultate primene prethodno pomenute „one pot“ procedure za dobijanje jedinjenja **1** uz korišćenje FeCl₃ kao katalizatora, planirane su tri reakcije sa različitim acilhalogenidima (2,4,6-trihlorobenzoil hloridom, 3-*O*-metoksibenzoil hloridom i *p*-toluensulfonil hloridom) za dobijanje odgovarajućih C-4 analoga (*Tabela 3.2.1.*).

Tabela 3.2.1. Sinteza 4-*O*-acil analoga **11** – **13**.



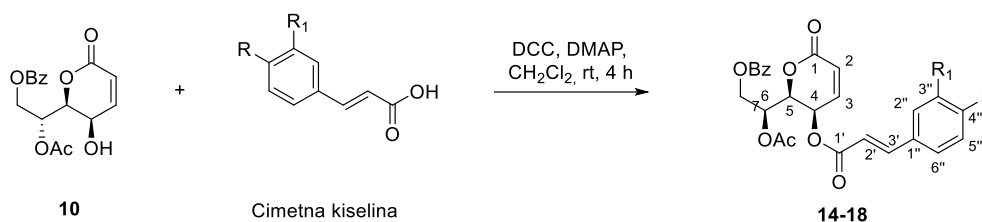
Ulaz	Polazno jedinjenje	FeCl ₃ (ekv)	Vreme (h)	Proizvod	Prinos (%)
1	9	0.3	24	11 (R ₁ ,R ₃ ,R ₄ = Cl)	44
2	9	0.3	24	12 (R ₁ ,R ₃ ,R ₄ = H), R ₂ = (OMe)	79
3	9	1.1	168	13	49

Prve dve reakcije sa 2,4,6-trihlorobenzoil hloridom i 3-*O*-metoksibenzoil hloridom su prošle očekivano pri reakcionim uslovima datim u *Tabeli 3.2.1.*, pri čemu su dobijeni očekivani C-4 analozi **11** (44%) i **12** (79%). Međutim, reakcija sa *p*-toluensulfonil hloridom je protekla neočekivano pri čemu je došlo do debenzilovanja i spontane C-6→C-4 acil migracije acetilne grupe uz nastajanje C-6 monola **13** (49%). Verovatni razlog pomenutog nepovoljnog ishoda reakcije se nalazi u različitom tipu primenjenog acilhalogenida, pri čemu reakcija protiče sa karbonilnim acil halogenidima ali ne i sa sulfonil halogenidima.

Nova grupa cinamatnih C-4 analoga je rezultat primene Steglich-ove⁴⁷ esterifikacije, gde je kao polazno jedinjenje upotrebljen lako dostupni intermedijerni C-4 alkohol **10** iz opisane sinteze (–)-kleistenolida (**1**) prikazane na *Shemi 3.2.1.*. Za prvu grupu farmakofora je izabrana cimetna kiselina i njeni derivati (4-fluorocimetna kiselina, 4-metoksicimetna kiselina, 4-nitrocimetna kiselina i 3,4-

di-metoksicimetna kiselina) bazirano na njihovoj okarakterisanoj biološkoj⁴⁸ aktivnosti. Rezultati sinteza cinamatnih C-4 analoga su prikazani u *Tabeli 3.2.2.*

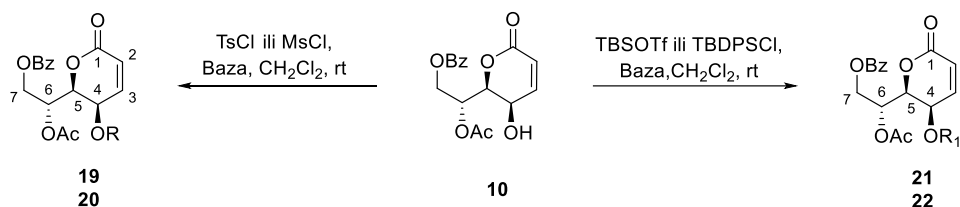
Tabela 3.2.2. Sinteza 4-O-cinamoilnih analoga **14** – **18**.



Ulaz	Cimetna kiselina	Proizvod	Prinos (%)
1	Cimetna kiselina (R = R ₁ = H)	14 (R = R ₁ = H)	82
2	4-Fluorocimetna kiselina (R = F, R ₁ = H)	15 (R = F, R ₁ = H)	74
3	4-Metoksicimetna kiselina (R = OMe, R ₁ = H)	16 (R = OMe, R ₁ = H)	87
4	4-Nitrocimetna kiselina (R = NO ₂ , R ₁ = H)	17 (R = NO ₂ , R ₁ = H)	62
5	3,4-di-Metoksicimetna kiselina (R = R ₁ = OMe)	18 (R = R ₁ = OMe)	75

Nakon uspješne sinteze acil (*Tabela 3.2.1.*) i cinamatnih (*Tabela 3.2.2.*) C-4 analoga, odlučili smo da uradimo sinteze sililnih (TBS i TBDPS) i sulfonilnih (Ms i Ts) C-4 analoga kako bi došli do što šireg spektra strukturno različitih, a potencijalno biološki aktivnih farmakofornih funkcionalnih grupa. Rezultati pomenutih sinteza su prikazani u *Tabeli 3.2.3.*

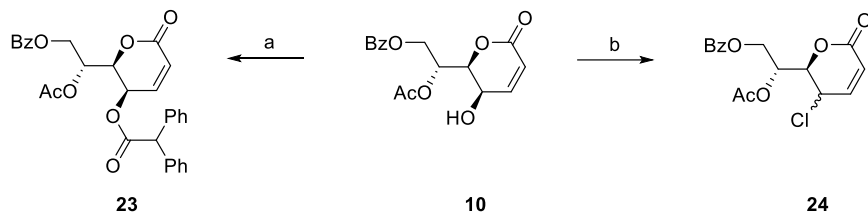
Tabela 3.2.3. Sinteza 4-O-silil i 4-O-sulfonil analoga **19** – **22**.



Ulaz	Polazno jedinjenje	Baza (Aditiv)	Vreme (h)	Proizvod	Prinos (%)
1	10	DMAP	1	19 (R = Ms)	87
2	10	DMAP	1	20 (R = Ts)	81
3	10	Py	20	21 (R ₁ = TBS)	87
4	10	N-metilimidazol (I ₂)	2	22 (R ₁ = TBDPS)	63

Za razliku od esterifikacije sa sulfonil hloridima (MsCl i TsCl) koje su protekle očekivano dajući u visokim prinosima odgovarajuće estre **19** i **20**, reakcije sililovanja nisu išle sa odgovarajućim reagensima (TBSOTf i TBDPSCl) uz korišćenje DMAP-a kao baze. Natali problem je rešen korišćenjem slabije baze (Py) za TBSOTf i pronalaskom druge efikasnije metode⁴⁹ sililovanja za TBDPSCl sa N-metilimidazolom i jodom kao katalizatorom. Pri novim reakcionim uslovima, dobijeni su željeni sililni C-4 analozi u visokim prinosima **21** (87%) i **22** (63%).

Na kraju planova vezanih za sintezu *C*-4 analoga i njihovih bioloških ispitivanja, sintetisani su još difenilsirćetni i hloridni analozi jedinjenja **1** (Shema 3.2.2.).

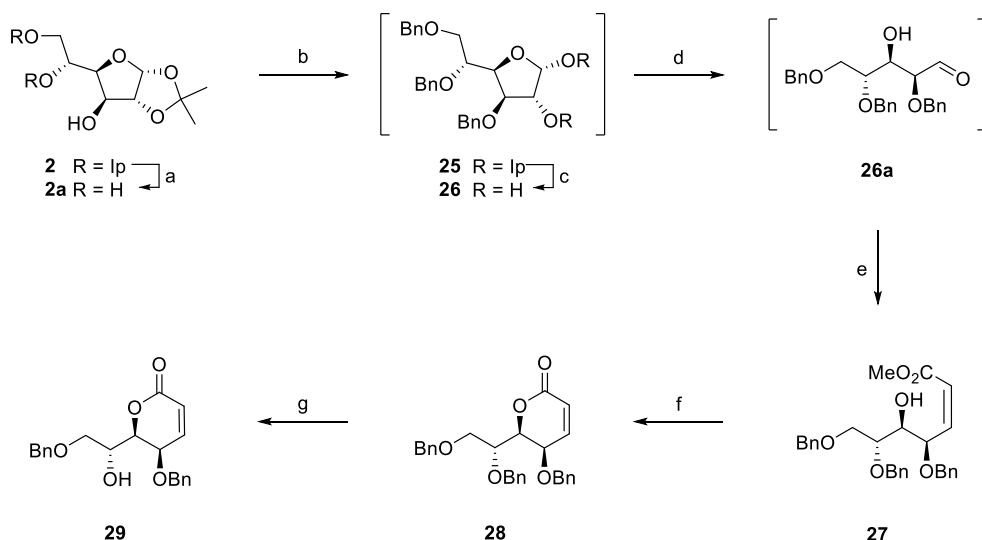


Shema 3.2.2. (a) DCC, DMAP, difenilsirćetna kis., rt, 24 h, 91%; (b) 2,6-lutidin, Ph₃P, CCl₄, rt, 24 h, 25%.

Analog **23** je dobijen u visokom prinosu od 91% primenom pomenute Steglich-ove esterifikacije, za razliku od odgovarajućeg halogenida **24** koji je dobijen u nižem prinosu od 25% primenom Appel-ove⁵⁰ reakcije.

3.3 Sinteza *C*-6 analoga (–)-kleistenolida (**1**)

Zbog potrebe što jednostavnije sinteze ključnog intermedijera **29**, koji je trebao biti sintetisan u većim količinama za dobijanje *C*-6 analoga (–)-kleistenolida (**1**), modifikovana je predhodno publikovana sinteza¹³ iz ekonomične i komercijalno dostupne 1,2,5,6-di-*O*-izopropiliden- α -D-glukofuranoze (**2**) u smislu masivnog korišćenja metoda spojenih sintetičkih faza i „one pot“ procedura kao što je prikazano na Shemi 3.3..



Shema 3.3. (a) 60% AcOH; (b) BnBr, NaH, DMF, 0 °C, 0.5 h, rt, 2 h; (c) 50 % aq TFA, CH₂Cl₂, rt, 18 h; (d) NaIO₄, MeOH, rt, 2 h; (e) Ph₃P=CHCO₂Me, MeOH, 0 °C, 23 h, 75 % iz **2**; (f) *p*-TsOH, CH₂Cl₂, rt, 96 %; (g) FeCl₃, cc AcOH, CH₂Cl₂, rt, 63 %.

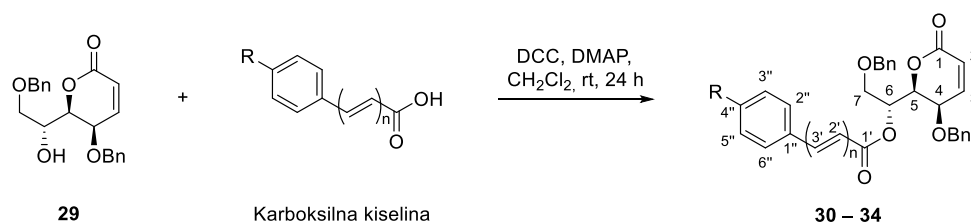
Višefazne hemijske transformacije jedinjenja **2** u ključni intermedijer **29** za sintezu *C*-6 analoga jedinjenja **1** započinju spojenim sintetičkim fazama u kojima je prvo hidrolitički uklonjena

terminalna izopropilidenska zaštita sa aq 60% AcOH, a intermedijerno nastali triol **2a** je potom totalno benzilovan dejstvom NaH i BnBr u anhidrovanom dimetilformamidu, pri čemu je dobijen intermedijerni tri-benzil **25**. U uslovima kisele hidrolize sa 50 % aq TFA u dihlorometanu, tri-benzil **25** je preveden u laktol **26** koji je bez prečišćavanja korišćen u narednoj reakciji. Wittig-ova reakcija je urađena „one pot“ procedurom u anh. MeOH, pri čemu je laktol **26** prvo oksidovan perjodnom oksidacijom (NaIO₄) u intermedijerni aldehyd **26a** koji je potom reagovao sa Ph₃P=CHCO₂Me uz dobijanje acikličnog Z-olefina **27** u visokom prinosu (75%). Ciklizacijom olefina **27** kiselom katalizom sa *p*-TsOH u dihlorometanu, dobijen je lakton **28** (96%). Tretmanom laktona **28** sa FeCl₃ i cc AcOH u dihlorometanu, dobijen je ciljani sekundarni monol **29** u dobrom prinosu od 63%.

Takođe, važno je napomenuti da je bez dodavanja AcOH reakcija bila zatno manje selektivna uz dobijanje znatno nižih prinosa jedinjenja **29** (25-40%), pa se može zaključiti da je naše otkriće AcOH kao aditiva, znatno pomoglo u dobijanju većih prinosa u odnosu na poznatu literaturnu⁴² proceduru u kojoj se koristi samo FeCl₃ u dihlorometanu.

Primenom Steglich-ove esterifikacije, sintetisana je prva grupa dibenzilovanih C-6 analoga od odabranih karboksilnih kiselina, počevši od benzojeve kiseline pa potom cimetne kiseline i njenih *p*-supstituisanih derivata u visokim prinosima (Tabela 3.3.).

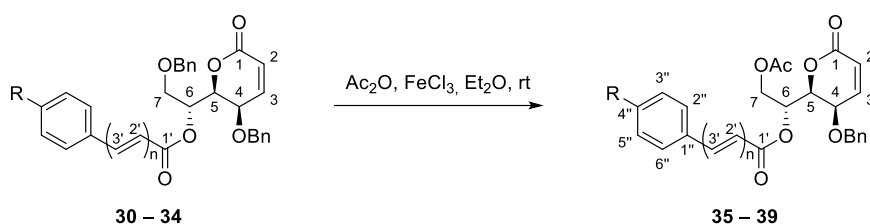
Tabela 3.3.: Sinteza dibenzilovanih C-6 analoga **30** – **34**.



Ulaz	Karboksilna kiselina	Proizvod	Prinos (%)
1	Benzojeva kiselina (n = 0, R = H)	30 (n = 0, R = H)	77
2	Cimetna kiselina (n = 1, R = H)	31 (n = 1, R = H)	81
3	4-Fluorocimetna kiselina (n = 1, R = F)	32 (n = 1, R = F)	88
4	4-Metoksicimetna kiselina (n = 1, R = OMe)	33 (n = 1, R = OMe)	81
5	4-Nitrocimetna kiselina (n = 1, R = NO ₂)	34 (n = 1, R = NO ₂)	80

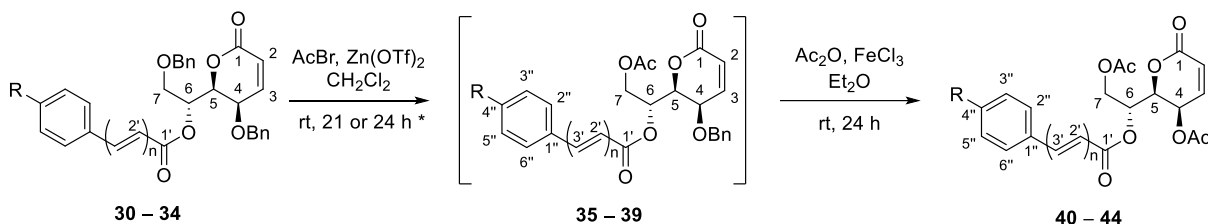
Strukture sintetisanih analoga **30** – **34** poseduju dve benzilne grupe od kojih je na C-7 primarna i može se selektivno transformisati u acetilnu primenom odgovarajućeg literaturnog metoda⁵¹.

Naime, ako se u ranije pomenutoj „one pot“ proceduri zamene Bn → Ac, umesto dihlorometana kao rastvarača upotrebi dietiletar, dolazi samo do selektivne reakcije primarne benzilne grupe na C-7 uz dobijanje odgovarajućih 7-O-acetilovanih analoga u visokim prinosima (Tabela 3.3.1.).

Tabela 3.3.1.: Sinteza 7-*O*-acetilovanih analoga **35** – **39**.

Ulaz	Polazno jedinjenje	FeCl ₃ (ekv)	Vreme (h)	Proizvod	Prinos (%)
1	30 (n = 0, R = H)	1.1	24	35 (n = 0, R = H)	97
2	31 (n = 1, R = H)	0.9	48	36 (n = 1, R = H)	96
3	32 (n = 1, R = F)	1	30	37 (n = 1, R = F)	95
4	33 (n = 1, R = OMe)	1	48	38 (n = 1, R = OMe)	79
5	34 (n = 1, R = NO ₂)	1	30	39 (n = 1, R = NO ₂)	83

Istraživanjem prethodno diskutovane reakcije, došli smo do saznanja da se selektivna zamena Bn → Ac, ipak može uraditi u dihlorometanu ali korišćenjem slabije Lewis-ove kiseline Zn(OTf)₂ što smo iskoristili u simultanoj sintezi finalnih 4,7-di-*O*-acetil *C*-6 supstituisanih analoga (Tabela 3.3.2.).

Tabela 3.3.2.: Sinteza 4,7-di-*O*-acetilovanih analoga **40** – **44**.

Ulaz	Polazno jedinjenje	Zn(OTf) ₂ (ekv)	FeCl ₃ (ekv)	Proizvod	Prinos (%)
1	30 (n = 0, R = H)	0.38	0	40 (n = 0, R = H)	53
2	31 (n = 1, R = H)	0.38	0.23	41 (n = 1, R = H)	65
3	32 (n = 1, R = F)	0.48	0.33	42 (n = 1, R = F)	63
4	33 (n = 1, R = OMe)	0.19	0.28	43 (n = 1, R = OMe)	28
5	34 (n = 1, R = NO ₂)	0.51	0.36	44 (n = 1, R = NO ₂)	55

* 24 h za **32** i **34**.

Finalni 4,7-di-*O*-acetil analozi **40** – **44** (53% – 65%) su dobijeni u dobrim prinosima uzimajući u obzir da je reč o dve sintetičke faze. Međutim, analog **43** je dobijen u znatno manjem prinosu što je verovatno posledica osetljivosti reagensa 4-metoksicimetne kiseline na Lewis-ove kiseline.

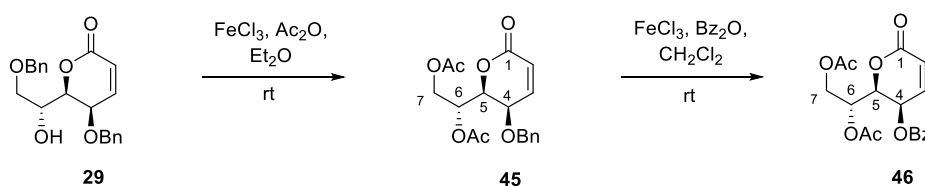
Prethodno diskutovane rezultate smo publikovali⁵², a dalja istraživanja smo usmerili na dobijanje različitih analoga prirodnoga **1** korišćenjem Lewis-ovih katalizatora na polazna jedinjenja **28** i **29** (Shema 3.3.) i to će biti prikazano u narednom potpoglavlju **3.4.**

3.4 Sinteza 4,6-di-*O*-benzil i 6,7-di-*O*-acetil C-6 supstisuanih analoga (–)-kleistenolida (1)

Rezultati koji su dobijeni dejstvom Lewis-ove kiseline FeCl₃ na di- i tribenzilna jedinjenja **29** i **28** uz prisustvo anhidrida (Ac₂O ili BzO), su od šireg sintetičkog značaja usled mogućnosti selektivne zamene ciljane benzilne grupe sa odgovarajućom estarskom. Naime, uobičajna procedura zamene zaštitne benzilne grupe odgovarajućom estarskom obuhvata dva sintetička koraka, primenu katalitičke hidrogenolize sa vodonikom ili korišćenje većih količina Lewis-ove kiseline, pri čemu se dobija intermedijerni alkohol koji se dalje esterifikuje odabranim metodom. Međutim, obe metode često nisu primenjive u praksi jer hidrogenoliza obično redukuje osetljive olefinske veze, a korišćenje jakih Lewis-ovih kiselina u većim količinama se često završava degradacijom supstrata.

U ovom radu je prikazan način kako se može iskoristiti prethodno diskutovana reakcija u sintezi naših željenih analoga selektivno na „one pot“ način (Tabela 3.4.).

Tabela 3.4.: Sinteza 6,7-di-*O*-acetilovanih analoga **45** i **46**.



Ulaz	Polazno jedinjenje	FeCl ₃ (ekv)	Vreme (h)	Proizvod	Prinos (%)
1	29	1	5	45	87
2	45	0.9	24	46	88

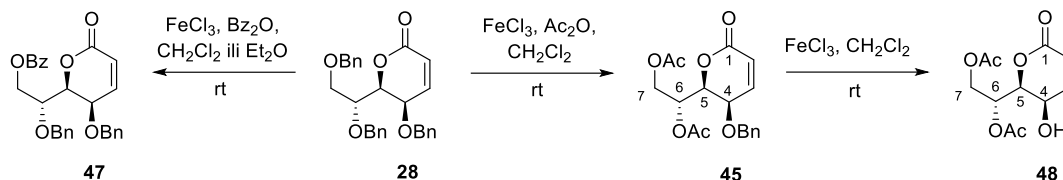
Pri reakcionim uslovima iz Tabele 3.4., dibenzilni monol **29** je preveden u 6,7-di-*O*-acetil mono benzilni analog **45** (87%). Naime, u prethodno pomenutoj reakciji su tri sintetička koraka (debenzilovanje-acetilovanje i acetilovanje slobodne alkoholne grupe sa C-6) urađene kao „one pot“ procedura. Naredna reakcija kojom je intermedijerni **45** preveden benzoilovani **46** (88%) uz korišćenje Bz₂O nije literaturno poznata, a dobijeno **46** je jedinjenje za koje se može reći da je svojevrsni „inverzni“ analog kleistenolida (**1**) usled premeštanja benzoilne grupe sa poslednjeg C-7 u prvi C-4 položaj skeletne strukture **1**.

Naša istraživanja reakcija sa odabranim anhidridima kiselina i FeCl₃ kao katalizatorom su završena sintezom još dva nova bioizosterna analoga **47** i **48** koji su prikazani u Tabeli 3.4.1..

Otkrili smo da je tip korišćenog rastvarača veoma bitan za ovakav tip hemijskih reakcija. Naime, upotrebom dihlorometana kao rastvarača se dobija prinos 4,6-di-*O*-benzilovanog **47** od samo 46%.

Međutim, ako se upotrebi dietiletar kao rastvarač, prinos željenog **47** se duplira na 97%. Na kraju je sintetisan monol **48** (81%), koji može da posluži kao polazno jedinjenje za dalja istraživanja biološke aktivnosti grupe 6,7-di-*O*-acetilovanih analoga.

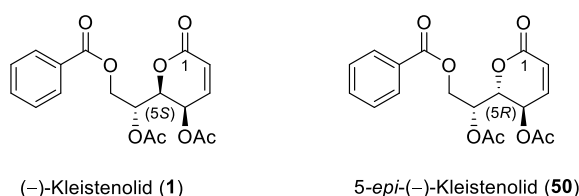
Tabela 3.4.1.: Sinteza 4,6-di-*O*-benzilovanog **47** i 6,7-di-*O*-acetilovanih analoga **45** i **47**.



Ulaz	Polazno jedinjenje	Rastvarač	FeCl ₃ (ekv)	Vreme (h)	Proizvod	Prinos (%)
1	28	CH ₂ Cl ₂	1.6	24	45	54
2	28	CH ₂ Cl ₂	0.7	4	47	46
	28	Et ₂ O	2.2	48	47	99
3	45	CH ₂ Cl ₂	3.1	3.5	48	81

3.5 Sinteza 5-*epi*-(-)-kleistenolida (**50**)

Kao što je u poglavlju „Uvodni deo“ pomenuto, jedan od naših ciljeva bila je i sinteza 5-*epi*-(-)-kleistenolida (**50**) od koga je do sada bila poznata samo jedna diastereoselektivna sinteza.¹⁶ Kao što se sa *Sheme* 3.5. vidi, prirodni (-)-kleistenolid (**1**) poseduje 5*S* stereohemiju laktonskog prstena, dok njegov stereoizomer 5-*epi*-(-)-kleistenolid (**50**) ima 5*R* konfiguraciju.

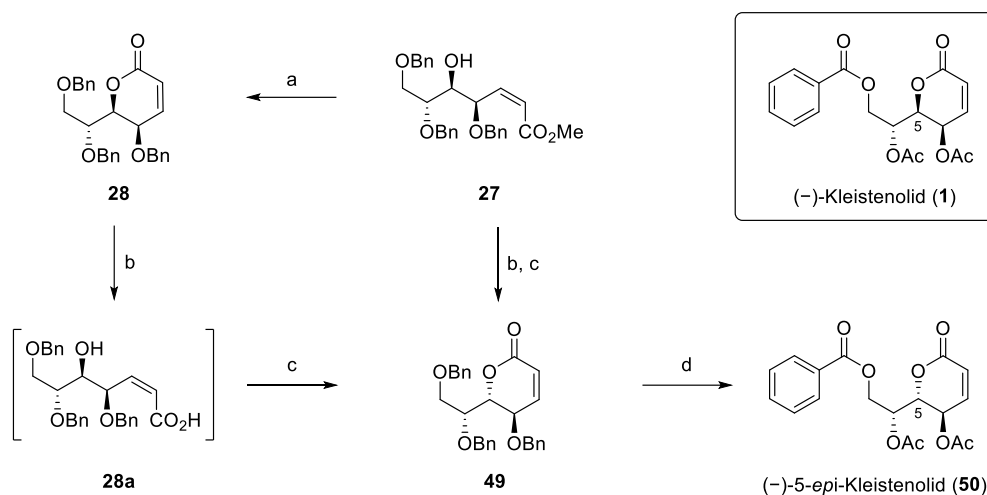


Shema 3.5.: Strukture (-)-kleistenolida (**1**) i 5-*epi*-(-)-kleistenolida (**50**).

Za sintezu 5-*epi*-(-)-kleistenolida (**50**) iskorišćena su intermedijerna jedinjenja **27** i **28** (*Shema* 3.3., str. 35) iz ranije pomenute sinteze 4,7-di-*O*-acetil *C*-6 supstituisanih analoga (*Shema* 3.5.).

Sinteza započinje ciklizacijom *cis*-olefina **27** kiselom katalizom sa TsOH u dihlorometanu na sobnoj temperaturi pri čemu je dobijen ranije opisani tribenzilni lakton **28** (96%) koji pri baznim hidrolitičkim uslovima sa Et₃N i LiBr kao aditivom u acetonitrilu, daje intermedijernu kiselinu **28a**.

Intermedijer **28a** koji se ne izoluje, je dalje tretiran Mitsunobu-ovim metodom sa Ph₃P i DEAD u anhidrovanom EtOAc na sobnoj temperaturi, pri čemu je dobijeno jedinjenje **49** u prinosu od 62 %.



Shema 3.5. (a) TsOH, CH₂Cl₂, rt, 96 %; (b) Et₃N, LiBr, 98 % aq MeCN, rt, 24 h; (c) Ph₃P, DEAD, anh EtOAc, rt, 20 h; 62 % iz **28a** i 40% iz **27**; (d) Bz₂O, BzOH, FeCl₃, AcBr, anh CH₂Cl₂, rt, 22 h, 76 %.

Intermedijer **49** se može dobiti i spojenim sintetičkim fazama iz jedinjenja **27**, ali u znatno manjem prinosu od 40%. Jedinjenje **49** koje poseduje potrebnu 5*R* konfiguraciju na C-5 je dalje tretirano „one pot“ procedurom u dihlorometanu na sobnoj temperaturi, prvo sa smesom Bz₂O/BzOH u prisustvu FeCl₃ kao katalizatorom i naknadnim dodavanjem AcBr. Pri prethodno navedenim reakcionim uslovima, dobijen je finalni 5-*epi*-(-)-kleistenolid (**50**) u prinosu 76%.

Ciljni 5-*epi*-(-)-kleistenolid (**50**) je sintetizovan u osam sintetičkih faza sa finalnim prinosom od 34% i to je takođe publikovano⁵³.

Sintezom prirodnog (-)-kleistenolida (**1**), velikog broja C-4 (**11 – 24**), C-6 (**30 – 34**), 4,6-di-*O*-benzilovanog (**47**) i 6,7-di-*O*-acetilovanih (**45** i **48**) analoga, kao i 5-*epi*-(-)-kleistenolida (**50**), ostvareni su svi sintetički ciljevi disertacije i obezbeđeni su uslovi za realizaciju finalne etape planiranih istraživanja usmerene na ispitivanje njihove biološke aktivnosti..

3.6 Ispitivanje antiproliferativne aktivnosti

Da bi biološki aktivni molekuli bili kandidati za antitumorske lekove, moraju imati značajnu antiproliferativnu aktivnost (citotoksičnost) prema neoplastičnim ćelijama pri nižim primenjenim koncentracijama. O antiproliferativnoj aktivnosti ispitivanog jedinjenja može se zaključivati na osnovu vremenske i dozne zavisnosti njegovog citotoksičnog efekta. Kvantitativni pokazatelj efikasnosti sprečavanja proliferacije tumorskih ćelija antitumorskim agensima, a samim tim i da se oni međusobno porede, je IC₅₀ vrednost (*eng.* Inhibitory Concentration), odnosno koncentracija ispitivane supstance pri kojoj broj tretiranih ćelija opadne za 50% u poređenju sa netretiranim kontrolim uzorkom ćelija.

Ispitana supstanca pokazuje dobru citotoksičnost u skladu sa opšteprihvaćenim standardima ako je njena IC_{50} vrednost manja od $10 \mu M$. Za razliku od jedinjenja čija je IC_{50} vrednost veća od $100 \mu M$, koja se smatraju neaktivnim, supstance sa IC_{50} vrednostima između 10 i $100 \mu M$ pokazuju umerenu do slabu citotoksičnost. Međutim, ukoliko analizirani molekul ispoljava posebno snažan antiproliferativni efekat, njegova IC_{50} vrednost je niža i od $1 \mu M$.

Antitumorski lekovi nove generacije treba da ispolje selektivnost, što ukazuje na to da nisu štetni ili su samo blago toksični za zdrave somatske ćelije, pored toga što efikasno inhibiraju proliferaciju neoplastičnih ćelija.

Istraživanja iz ove doktorske disertacije su početna *in vitro* ispitivanja antitumorske efikasnosti jedinjenja **1** i ostalih analoga. Prema dostupnim literaturnim podacima, a do naših prvih antiproliferativnih ispitivanja¹³ na ovom prirodnom proizvodu su do sada bila samo urađena ispitivanja antibakterijske i antifungalne aktivnosti.

Cilj ovog rada je bio da se ispituju antiproliferativna svojstva sintetičkog (-)-kleistenolida (**1**), C-4 i C-6 analoga i prirodnog C-5 epimera na rast jedanaest ćelijskih linija ljudskih karcinoma, ali i na rast jedne zdrave ćelijske linije (MRC-5, fetalnih fibroblasta pluća). Odabrane su sledeće kancer ćelijske linije: K562 (hronična mijelogena leukemija), HL60 (promielocitna leukemija), Jurkat (T-limfocitna leukemija), Raji (Burkitt-ov limfom), PC-3 (rak prostate), HT-29 (rak debelog creva), MCF-7 (estrogen receptor pozitivni adenokarcinom dojke), MDA-MB231 (estrogen receptor negativni adenokarcinom dojke), HeLa (karcinom cerviksa), Hs294T (melanom) i A549 (karcinom pluća).

U *Tabeli 3.6.* prikazani su rezultati antiproliferativne aktivnosti jedinjenja **11** - **13**. Generalno, analizirani analozi su ispoljili visoku ili umerenu aktivnost prema malignim ćelijskim linijama, dok nisu bili toksični prema zdravoj ćelijskoj liniji, MRC-5. Najznačajniji rezultat se uočava kod jedinjenja **11** prema ćelijskoj liniji A549 ($IC_{50} = 5.02 \mu M$), gde je ispoljena aktivnost nešto slabije izražena u odnosu na aktivnost komercijalnog dostupnog leka doksorubicina (DOX). Najjača aktivnost jedinjenja **12** je uočena prema ćelijskim linijama K562 i HL60 sa IC_{50} vrednostima od 1.59 i $1.70 \mu M$, respektivno. Ispoljena aktivnost nije izraženija u odnosu na aktivnost DOX-a, ali je ipak izuzetno značajna ako uzmemo u obzir da je referentni DOX izuzetno toksičan prema zdravoj ćelijskoj liniji (MRC-5). Najznačajniji rezultati su umerena aktivnost prema ćelijskoj liniji PC-3 ($IC_{50} = 28.13 \mu M$), koja je više od 2 puta aktivnija od ispoljene aktivnosti DOX-a.

Slične rezultate ispoljio je i analog **13** sa IC_{50} od $29.14 \mu M$ prema PC-3 liniji, što je takođe i najznačajniji rezultat ovog analoga. Značajna aktivnost je isto ispoljena prema K562 i HL60 ćelijskim linijama (IC_{50} vrednosti 3.45 i $4.41 \mu M$). Ovi rezultati su slabiji od DOX prema istim

ćelijskim linijama ali zato analog **13** nije ispoljio toksičan efekat prema zdravoj ćelijskoj liniji MRC-5.

Tabela 3.6.: IC₅₀ vrednosti (50% inhibitorna koncentracija) [μM] testiranih jedinjenja **11** – **13** i referentnog jedinjenja Doksorubicina (**DOX**), dobijenih *in vitro* MTT testom nakon tretmana od 72 h.

Ispitivano jedinjenje	IC ₅₀ (μM), 72 h											
	K562	HL60	Jurkat	Raji	PC-3	HT-29	MCF-7	MDA-MB 231	HeLa	Hs294T	A549	MRC-5
11	11.88	22.87	9.40	23.64	45.42	13.52	28.39	23.40	8.71	>100	5.02	>100
12	1.59	1.70	25.28	25.15	28.13	42.57	8.79	25.64	9.43	46.06	12.11	>100
13	3.45	4.41	22.81	16.24	29.14	46.20	7.85	15.30	7.73	81.76	13.89	>100
DOX	0.25	0.92	0.03	2.98	84.23	0.15	0.20	0.09	0.07	4.50	4.91	0.10

U Tabeli 3.6.1. prikazani su rezultati 4-*O*-cinamoilnih analoga **14** – **18**. Iz ove grupe jedinjenja najznačajniji rezultat je uočen prema ćelijskoj liniji K562, gde je svaki od ispitivanih analoga ispoljio značajnu aktivnost. Analog **14** je najaktivniji iz ove grupe i istovremeno nije bio toksičan prema zdravoj ćelijskoj liniji. Takođe, nijedan od analiziranih analoga nije bio toksičan prema MRC-5 ćelijskoj liniji.

Tabela 3.6.1.: IC₅₀ vrednosti [μM] testiranih jedinjenja **14** – **18** dobijenih *in vitro* MTT testom nakon 72 h tretmana.

Ispitivano jedinjenje	IC ₅₀ (μM), 72 h											
	K562	HL60	Jurkat	Raji	PC 3	HT-29	MCF-7	MDA-MB 231	HeLa	Hs294T	A549	MRC-5
14	0.76	6.36	11.79	3.30	84.02	13.47	22.50	4.29	7.00	53.14	8.55	>100
15	6.75	16.13	28.62	26.43	31.60	52.62	5.28	17.69	17.86	47.14	87.60	>100
16	1.28	15.32	24.07	25.73	20.05	69.81	12.81	26.61	15.57	>100	41.60	>100
17	5.82	24.50	23.51	25.03	28.51	48.37	21.33	15.54	13.28	>100	2.55	>100
18	4.52	5.75	22.62	26.43	31.10	37.48	6.35	15.90	8.73	–	13.64	>100
DOX	0.25	0.92	0.03	2.98	84.23	0.15	0.20	0.09	0.07	4.50	4.91	0.10

U Tabeli 3.6.2. su prikazani rezultati aktivnosti 4-*O*-silil i 4-*O*-sulfonil analoga (–)-kleistenolida (**19** – **22**). Jedinjenje **19** je ispoljilo visoku aktivnost prema ćelijskim linijama K562, HL60 i MCF-7, dok je prema ostalim ćelijskim linijama ispoljena umerena aktivnost. Analog **20** je takođe pokazao jaku aktivnost prema ćelijskoj liniji K562, dok je prema ostalim ćelijskim linijama pokazao umerenu aktivnost. Ako posmatramo rezultate jedinjenja **21**, ono je pokazalo snažnu aktivnost prema ćelijskim linijama K562, MCF-7 i HeLa, dok je prema ostalim ćelijskim linijama pokazana umerena aktivnost. Jedinjenje **22** je ispoljilo dobru aktivnost prema ćelijskim linijama K562, HL60, MCF-7, MDA-MB 231 i HeLa, dok je prema ostalim linijama uočena umerena aktivnost. Najznačajniji rezultat u ovoj grupi je aktivnost jedinjenja **22** prema HeLa ćelijskoj liniji sa IC₅₀ vrednošću od 3.35 μM koji ipak nije dostigao aktivnost DOX-a. Važno je pomenuti da su

sva sintetisana jedinjenja **19** – **22** zadržala znatno bolju aktivnost prema PC-3 ćelijskoj liniji nego komercijalni citostatik DOX.

Tabela 3.6.2.: IC₅₀ vrednosti [μM] testiranih jedinjenja **19** – **22** dobijenih *in vitro* MTT testom nakon 72 h tretmana.

Ispitivano jedinjenje	IC ₅₀ (μM), 72 h											
	K562	HL60	Jurkat	Raji	PC 3	HT-29	MCF-7	MDA-MB 231	HeLa	Hs294T	A549	MRC-5
19	8.78	3.63	15.23	16.96	45.55	39.82	3.26	14.87	14.15	22.96	11.34	>100
20	4.50	20.91	26.59	18.95	25.90	43.16	11.28	14.85	15.80	77.81	12.37	>100
21	6.72	11.62	16.74	18.84	24.70	35.06	4.14	35.37	9.96	61.57	12.10	>100
22	5.85	5.64	19.71	25.08	32.39	34.58	9.39	8.36	3.35	94.35	30.57	>100
DOX	0.25	0.92	0.03	2.98	84.23	0.15	0.20	0.09	0.07	4.50	4.91	0.10

Iako smo dobili umerene rezultate citotoksičnosti, oni su značajni iz razloga što ni jedan od novosintetisanih analoga nije ispoljio toksičnost prema zdravoj ćelijskoj liniji MRC-5.

Tabela 3.6.3.: IC₅₀ vrednosti [μM] testiranih jedinjenja **23** i **24** dobijenih *in vitro* MTT testom nakon 72 h tretmana.

Ispitivano jedinjenje	IC ₅₀ (μM), 72 h											
	K562	HL60	Jurkat	Raji	PC 3	HT-29	MCF-7	MDA-MB 231	HeLa	Hs294T	A549	MRC-5
23	6.32	4.64	14.47	14.02	35.97	44.70	2.83	17.61	9.75	58.66	10.95	>100
24	2.25	2.63	13.99	17.90	35.12	34.94	3.70	16.12	8.56	77.27	21.72	>100
DOX	0.25	0.92	0.03	2.98	84.23	0.15	0.20	0.09	0.07	4.50	4.91	0.10

Rezultati antiproliferativne aktivnosti C-4 analoga, difenilsirćetnog i hlorovanog analoga **23** i **24** su prikazani u Tabeli 3.6.3.. Oba jedinjenja pokazuju visoku aktivnost prema ćelijskim linijama K562, HL60, MCF-7 i HeLa, dok je prema ostalim ćelijskim linijama ispoljena umerena aktivnost. Najbolji rezultat u poređenju sa kontrolnim uzorkom je ispoljen na PC-3 ćelijsku liniju, gde iako samo umerena aktivnost, sa IC₅₀ od 35.97 i 35.12 μM, sa ovim rezultatima su analozi pokazali dvostruko bolju aktivnost od DOX-a (IC₅₀ = 84.23 μM). Kao i prethodno analizirani analozi, ni analozi **23** i **24** nisu bili toksični prema MRC-5 ćelijama.

Tabela 3.6.4.: IC₅₀ vrednosti [μM] testiranih jedinjenja **30** – **34** dobijenih *in vitro* MTT testom nakon 72 h tretmana.

Ispitivano jedinjenje	IC ₅₀ (μM), 72 h											
	K562	HL60	Jurkat	Raji	PC 3	HT-29	MCF-7	MDA-MB 231	HeLa	Hs294T	A549	MRC-5
30	2.13	6.83	10.79	7.98	28.24	35.15	1.23	4.21	8.77	43.94	13.05	>100
31	0.22	0.51	9.76	2.55	1.21	14.93	6.53	18.82	3.96	90.53	1.19	>100
32	2.69	2.26	6.17	6.28	21.16	203.61	7.91	20.81	0.04	93.61	5.29	>100
33	2.06	4.46	0.09	0.38	>100	>100	2.46	15.26	1.93	>100	2.30	>100
34	1.21	1.69	13.35	8.82	11.26	94.98	5.13	16.83	6.97	>100	10.08	69.44
DOX	0.25	0.92	0.03	2.98	84.23	0.15	0.20	0.09	0.07	4.50	4.91	0.10

U *Tabeli 3.6.4.* prikazana je antiproliferativna aktivnost dibenzilovanih C-6 analoga (–)-kleistenolida **30** – **34**. Ispitivano jedinjenje **30** pokazalo je dobru aktivnost prema K562, HL60, Raji, MCF-7, MDA-MB 231, i HeLa ćelijskim linijama. Umerenu aktivnost je ispoljilo prema ostalim ćelijskim linijama (Jurkat, PC-3, HT-29, Hs-294T i A549). Jedinjenje **31** je pokazalo submikromolarnu aktivnost prema dve ćelijske linije, gde je uočena $IC_{50} = 0,22 \mu M$ na K562 ćelijku liniju i time je postignuta ista aktivnost kao kod DOX-a, dok je druga prema ćelijskoj liniji HL60 ($IC_{50} = 0.51 \mu M$) i sa ovim rezultatom analog **31** je ispoljio 1,8 puta veću aktivnost od DOX-a. Sa IC_{50} vrednošću od $1.21 \mu M$ prema ćelijskoj liniji PC-3, ovaj analog je pokazao više od 50 puta jaču aktivnost od DOX-a, a nije bio toksičan ni prema zdravoj ćelijskoj liniji. Jedinjenje **32** je pokazalo visoku aktivnost prema svim tumorskim ćelijskim linijama, sa izuzetkom PC-3 i MDA-MB-231, prema kojima je ispoljena samo umerenu aktivnost, dok je ovaj analog bio neaktivan prema ćelijskoj liniji HT-29. Najjača aktivnost je ispoljena prema ćelijskoj liniji HeLa sa IC_{50} vrednošću od $0.04 \mu M$, čime je ostvarena nanomolarna aktivnost, skoro dva puta veća od DOX-a, dok pri tome nije bio toksičan prema zdravoj ćelijskoj liniji. Jedinjenje **33** je pokazao submikromolarnu aktivnost prema liniji Jurkat sa $IC_{50} = 0.09 \mu M$. Submikromolarna aktivnost je takođe zabeležena i prema ćelijskoj liniji Raji ($IC_{50} = 0.38 \mu M$) i to je značajan rezultat s obzirom da je aktivnost ovog analoga skoro 8 puta bila jača od aktivnosti DOX-a ($IC_{50} = 2.98 \mu M$). Jaka aktivnost je još zabeležena prema ćelijskim linijama K562, HL60, MCF-7, HeLa i A549. Analog **34** je takođe pokazao širok spektar aktivnosti, gde je bio neaktivan prema liniji Hs294T, dok je prema ostalim ćelijskim linijama ispoljio visoku aktivnost, ali je pored toga ispoljena i blaga citotoksičnost prema zdravoj ćelijskoj liniji. Generalno, dolazi se do zaključka da je ova grupa jedinjenja bila izuzetno aktivna, skoro prema svim ispitivanim ćelijskim linijama sa izuzetkom HT-29 i Hs294T ćelijskih linija.

Tabela 3.6.5.: IC_{50} vrednosti [μM] testiranih jedinjenja **35** – **39** dobijenih *in vitro* MTT testom nakon 72 h tretmana.

Ispitivano jedinjenje	IC_{50} (μM), 72 h											
	K562	HL60	Jurkat	Raji	PC 3	HT-29	MCF-7	MDA-MB 231	HeLa	Hs294T	A549	MRC-5
35	1.51	5.96	14.23	17.42	40.60	39.02	5.27	12.46	3.03	35.75	12.52	>100
36	0.94	6.14	11.88	0.94	31.83	6.88	0.70	18.57	2.29	>100	2.44	91.38
37	0.38	6.99	12.75	1.33	23.56	23.59	4.21	24.44	5.81	>100	3.25	87.71
38	0.10	7.41	14.51	2.06	11.25	30.35	5.24	15.50	2.96	>100	3.49	>100
39	0.66	6.57	15.00	10.60	15.86	13.17	2.17	13.38	12.66	>100	3.01	>100
DOX	0.25	0.92	0.03	2.98	84.23	0.15	0.20	0.09	0.07	4.50	4.91	0.10

Sledeća ispitivana grupa (*Tabela 3.6.5.*) su bili 7-O-acetilovani analozi (–)-kleistenolida (jedinjenja **35** – **39**). Analog **35** je ispoljio visoku aktivnost prema sledećim ćelijskim linijama:

K562, HL60, MCF-7 i HeLa, dok je prema ostalih 7 tumorskih ćelijskih linija pokazao umerenu aktivnost. Jedinjenje **36** je ispoljilo submikromolarnu aktivnost prema ćelijskoj liniji K562 ($IC_{50} = 0.94 \mu\text{M}$), dok je aktivnost prema Raji ćelijskoj liniji ($IC_{50} = 0.94 \mu\text{M}$) više od tri puta veća od DOX. Prema MCF-7 je izmerena submikromolarna aktivnost ($IC_{50} = 0,70 \mu\text{M}$). Prema HL60, HT-29, HeLa i A549 dobijena je značajna aktivnost, a prema Jurkat, PC-3 i MDA-MB231 umerena aktivnost, dok je analog bio neaktivan prema Hs294 ćelijama. Rezultati na Raji i A549 linijama su izuzetno značajni, gde je jedinjenje **36** pokazalo jaču aktivnost od DOX. Ispitivanje jedinjenja **37** pokazalo je da navedeni analog ispoljava submikromolarnu aktivnost prema leukemijskoj ćelijskoj liniji K562 ($IC_{50} = 0.38 \mu\text{M}$) koja je nešto slabija bila od aktivnosti ispoljene od strane DOX-a ($IC_{50} = 0.25 \mu\text{M}$). Visoka aktivnost je uočena i prema sledećim linijama: HL60, Raji, MCF-7, HeLa i A549, dok je analog **37** bio neaktivan prema Hs294T ćelijama, a prema ostalim ćelijskim linijama je ispoljio umerenu aktivnost. Iako je visoka aktivnost postignuta prema Raji i A549 linijama, oba rezultata su bila jača od aktivnosti DOX-a. Dalje, analog **38** je ispoljio submikromolarnu aktivnost prema K562 ($IC_{50} = 0.10 \mu\text{M}$) i time je 2,5 puta aktivniji od DOX-a ($IC_{50} = 0.25 \mu\text{M}$). Značajna aktivnost je uočena prema sledećim ćelijskim linijama: HL60, Raji, MCF-7, HeLa i A549, gde je najznačajniji rezultat ovog analoga bio prema Raji i A549 ćelijskim linijama. Takođe, analog **39** je ispoljio submikromolarnu aktivnost ($IC_{50} = 0.66 \text{ mM}$) prema ćelijskoj liniji K562, dok je bio neaktivan prema ćelijskoj liniji Hs294T, a ispoljilo je umerenu aktivnost prema Jurkat, Raji, PC-3, HT-29, MDA-MB-231 i HeLa ćelijskim linijama.

Iz grupe 4,7-di-*O*-acetilovanih analoga (–)-kleistenolida (Tabela 3.6.6.), jedinjenje **40** je ispoljilo submikromolarnu aktivnost prema K562 ($IC_{50} = 0.90 \mu\text{M}$). HL60, Jurkat, MCF-7 i HeLa su ćelijske linije prema kojima je ovaj analog pokazao jaču aktivnost, a prema preostalim 6 je uočena umerena citotoksičnost.

Tabela 3.6.6.: IC_{50} vrednosti [μM] testiranih jedinjenja **40** – **44** dobijenih *in vitro* MTT testom nakon 72 h tretmana.

Ispitivano jedinjenje	IC_{50} (μM), 72 h											
	K562	HL60	Jurkat	Raji	PC 3	HT-29	MCF-7	MDA-MB 231	HeLa	Hs294T	A549	MRC-5
40	0.90	5.09	8.66	13.85	20.96	34.90	3.70	13.12	2.29	37.56	15.98	>100
41	1.22	5.72	4.39	1.30	81.52	89.48	1.64	40.24	2.20	>100	2.41	>100
42	1.82	2.59	15.06	10.40	50.29	24.51	1.30	8.03	21.31	>100	1.39	70.31
43	1.50	5.30	1.89	1.66	52.21	72.08	4.58	31.91	2.11	>100	2.37	>100
44	2.84	4.53	14.43	9.11	31.21	26.70	0.35	2.08	16.55	>100	0.11	75.61
DOX	0.25	0.92	0.03	2.98	84.23	0.15	0.20	0.09	0.07	4.50	4.91	0.10

Analog **41** je ispoljio visoku aktivnost prema svim analiziranim kancer ćelijskim linijama osim Hs294T. Umerena aktivnost je uočena prema PC-3 HT-29 i MDA-MB-231, dok je najznačajniji

rezultat ispoljen prema A549 ($IC_{50} = 2.41 \mu M$). Zatim, jedinjenje **42** je pokazalo visoku aktivnost prema K562, HL60, MCF-7, MDA-MB-231 i A549 tumorskim linijama, dok je neaktivan bio prema Hs294T. Najznačajniji rezultat je aktivnost prema A549 ($IC_{50} = 1.39 \mu M$), koja je tri puta veća od aktivnosti DOX-a ($IC_{50} = 4.91 \mu M$). Slabija citotoksičnost je uočena prema zdravoj ćelijskoj liniji MRC-5. Naredno ispitivano jedinjenje **43** je pokazalo dobru aktivnost prema svim ćelijskim linijama sa izuzetkom Hs294T prema kojoj je bilo neaktivno, dok je prema PC-3, HT-29 i MDA-MB-231 ispoljilo umerenu aktivnost. Prema Raji ćelijama ($IC_{50} = 1.66 \mu M$) pokazalo je skoro dva puta jaču aktivnost od komercijalno dostupnog DOX ($IC_{50} = 2.98 \mu M$), a sa IC_{50} vrednošću od $2.37 \mu M$ prema A549 ćelijskoj liniji ostvarena je dvostruko veća aktivnost u odnosu na ovo referentno jedinjenje. Analog **44** je pokazao submikromolarnu aktivnost prema ćelijskoj liniji MCF-7 ($IC_{50} = 0.35 \mu M$) i prema A549 ($IC_{50} = 0.11 \mu M$), što je izvanredan rezultat, jer je aktivnost više od čak 40 puta veća nego DOX-a.

Vrednosti iz *Tabele 3.6.7.* za C-6 analoge opisuju antiproliferativnu aktivnost 4,6-di-O-benzilovanog i 6,7-di-O-acetilovanog analoga (–)-kleistenolida. Poslednji analog koji je pokazao submikromolarnu aktivnost je jedinjenje **47** i ova aktivnost je ispoljena prema K562 liniji ($IC_{50} = 0.67 \mu M$), gde je analog nešto slabije aktivan od DOX-a. Što se tiče ostalih rezultata, uglavnom je uočena umerena aktivnost, osim prema ćelijskim linijama HL60, MCF-7 i HeLa, gde je zabeležena visoka aktivnost.

Preostala jedinjenja iz ove grupe **45**, **46** i **48** su ispoljila većinski umerenu aktivnost. Jedinjenje **45** je ispoljilo značajnu aktivnost prema ćelijskim linijama K562, HL60 i HeLa, dok je analog **46** pokazao visoku aktivnost prema tri ćelijske linije (K562, HL60 i MCF-7), a analog **48** je ispoljio visoku aktivnost prema četiri ćelijske linije (K562, HL60, MCF-7 i HeLa).

Tabela 3.6.7.: IC_{50} vrednosti [μM] testiranih jedinjenja **45** – **48** dobijenih *in vitro* MTT testom nakon 72 h tretmana.

Ispitivano jedinjenje	IC_{50} (μM), 72 h											
	K562	HL60	Jurkat	Raji	PC 3	HT-29	MCF-7	MDA-MB 231	HeLa	Hs294T	A549	MRC-5
45	1.12	1.39	19.02	11.65	33.43	35.42	15.45	16.13	6.17	94.49	23.25	>100
46	2.65	4.39	18.26	10.71	33.85	45.30	5.01	15.88	10.77	70.18	22.87	>100
47	0.67	3.34	12.03	19.23	17.69	22.19	5.90	19.24	8.30	81.36	12.91	>100
48	1.18	9.62	17.50	19.77	28.28	39.18	4.58	45.62	5.36	85.88	12.49	>100
DOX	0.25	0.92	0.03	2.98	84.23	0.15	0.20	0.09	0.07	4.50	4.91	0.10

Poslednja *Tabela 3.6.8.* sa IC_{50} vrednostima prikazuje aktivnost 5-epi-(–)-kleistenolida (**50**) i (–)-kleistenolida (**1**).

Ispitivanje antiproliferativne aktivnosti jedinjenja **49** je pokazalo da ono ispoljava submikromolarnu aktivnost prema leukemijskoj ćelijskoj liniji K562 ($IC_{50} = 0.33 \mu M$). Što se tiče

ostalnih rezultata, ispoljena je i značajna aktivnost prema ćelijskim linijama HL60, Raji, MDA-MB-231 i HeLa.

Tabela 3.6.8.: IC₅₀ vrednosti [μM] testiranih jedinjenja **1**, **49** i **50** dobijenih *in vitro* MTT testom nakon 72 h tretmana.

Ispitivano jedinjenje	IC ₅₀ (μM), 72 h											
	K562	HL60	Jurkat	Raji	PC 3	HT-29	MCF-7	MDA-MB 231	HeLa	Hs294T	A549	MRC-5
49	0.33	8.27	17.03	1.05	64.33	34.37	20.06	7.04	5.90	40.77	17.21	>100
50	0.21	7.31	19.41	2.47	74.18	28.92	21.28	7.66	6.45	36.18	9.38	>100
1	7.65	1.21	14.22	36.94	28.63	78.38	26.07	2.25	7.32	>100	16.34	>100
DOX	0.25	0.92	0.03	2.98	84.23	0.15	0.20	0.09	0.07	4.50	4.91	0.10

U Tabeli 3.6.8. može da se uoči da je analog **50** ispoljio submikromolarnu aktivnost sa IC₅₀ vrednost od 0.21 μM prema ćelijskoj liniji K562. Ovaj rezultat je podjednak i čak neznatno bolji od aktivnosti komercijalno dostupnog DOX-a. Prema ćelijskim linijama HL60, Raji, MDA-MB-231, HeLa i A549 jedinjenje je pokazalo značajnu aktivnost (IC₅₀ < 10 μM). Antiproliferativna aktivnost (–)kleistenolida (**1**) je ispoljio visoku aktivnost prema ćelijskim linijama K562, HL60, MDA-MB-231 i HeLa, kao i umerenu aktivnost koja je zabeležena prema Jurkat, Raji, PC-3, MCF-7 i A549 linijama, dok je jedinjenje **1** neaktivno prema Hs294T.

Generalno, može da se zaključi da su analizirana jedinjenja ispoljila izuzetnu aktivnost prema ćelijskim linijama K562, HL60, Raji, MCF-7, HeLa i A549. Novosintetizovani analozi su uglavnom bili netoksični, a samo je nekoliko njih pokazao blagu citotoksičnost prema zdravoj ćelijskoj liniji MRC-5.

3.7 Antimikrobna aktivnost

Disk difuzioni test:

Odabrana jedinjenja su testirana na antimikrobnu aktivnost korišćenjem standardnog testa difuzije diska naspram panela mikroorganizama: gram pozitivnih bakterija - *Staphylococcus aureus* (NCTC 6571) i *Listeria monocytogenes* (NCTC 11994), gram negativnih bakterija - *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 10332) i *Klebsiella pneumoniae* (ATCC BAA 2146), kao i gljivice *Candida albicans* (ATCC 10231). Testirani organizmi su raspoređeni na LA (*bacteria spp.*) i SAB (*Candida sp.*) agar ploče, a sterilni diskovi su stavljeni sa 500 μg jedinjenja po disku. Svako od analiziranih jedinjenja je rastvoreno u DMSO, koji je korišćen kao negativna kontrola. Sve ploče su inkubirane 24 h na 37 °C kod ispitivanja antibakterijske aktivnosti, dok je temperatura inkubacije u slučaju analiziranja antifungalne aktivnosti bila 30 °C za *Candida*.

Nekoliko testiranih jedinjenja pokazalo je specifičnost protiv bakterije *S. aureus*, sa blagom (jedinjenja **40** i **46**) ili niskom aktivnošću (**45**, **48**, **20**, **29**, **21** i **19**) na njen rast. Jedinjenje **48** je

pokazalo slabu aktivnost protiv vrste *L. monocitogenes*, dok je jedinjenje **29** pokazao vrlo slabu inhibitornu aktivnost protiv *C. albicans*. Međutim, *P. aeruginosa* i *K. pneumonie* su bile otporne na sva ispitivana jedinjenja.

Tabela 3.7.: Antimikrobna aktivnost ispitivanih jedinjenja na nekoliko vrsta bakterija i *Candida*. Aktivnost se pokazuje u prečniku zona inhibicije rasta [mm] oko diskova sa jedinjenjima.

Broj	Jedinjenje	<i>S. aureus</i> NCTC 6571	<i>L. monocitogenes</i> NCTC 11994	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 10332	<i>K. pneumonie</i> ATCC BAA 2146	<i>C. albicans</i> ATCC 10231
1	20	<1	/	/	/	/
2	14	/	/	/	/	/
3	29	<1	/	/	/	<1
4	21	<1	/	/	/	/
5	38	/	/	/	/	/
6	50	/	/	/	/	/
7	19	<1	/	/	/	/
8	31	/	/	/	/	/
9	35	/	/	/	/	/
10	49	/	/	/	/	/
11	48	<1	1	/	/	/
12	16	/	/	/	/	/
13	45	2	/	/	/	/
14	23	/	/	/	/	/
15	30	/	/	/	/	/
16	11	/	/	/	/	/
17	46	3	/	/	/	/
18	33	/	/	/	/	/
19	47	/	/	/	/	/
20	22	/	/	/	/	/
21	40	3	/	/	/	/

Minimalna inhibitorna koncentracija (MIC)

Minimalne inhibitorne koncentracije (MIC) su određene prema CLSI smernicama za mikrodiluciju bujona (Institut za kliničke i laboratorijske standarde 2008, 2012) prema standardizovanoj metodologiji. Standardizovanu metodologiju korišćenu u ovoj studiji preporučuje Nacionalni komitet za kliničke laboratorijske standarde (M07-A8) za bakterije. Sva testirana jedinjenja su prvo rastvorena u DMSO, u koncentraciji od 100 mg/mL, što je omogućilo visoku početnu koncentraciju za dalja razblaženja. Najviša testirana koncentracija u mikrotitarskim pločama sa ravnim dnom sa 96 bunarčića bila je 500 µg/mL, a serijska razblaženja su smanjena na 7,8 µg/mL. Testirani mikroorganizmi su uključivali tri soja *Staphilococcus*: *S. aureus* NCTC 6571, *S. aureus* ATCC 25923 i *S. aureus* ATCC 43300 (*S. aureus* otporan na meticilin, MRSA). Antibakterijski MIC su određeni u LB (Luria Bertani) i inokulum je bio 5×10^5 jedinica koje

formiraju kolonije (CFU/mL). Vrednost MIC je zabeležena kao najniža koncentracija koja je inhibirala rast posle 24 h na 37 °C.

Tabela 3.7.1.: Antimikrobna aktivnost ispitivanih jedinjenja protiv *Staphilococcus* spp.

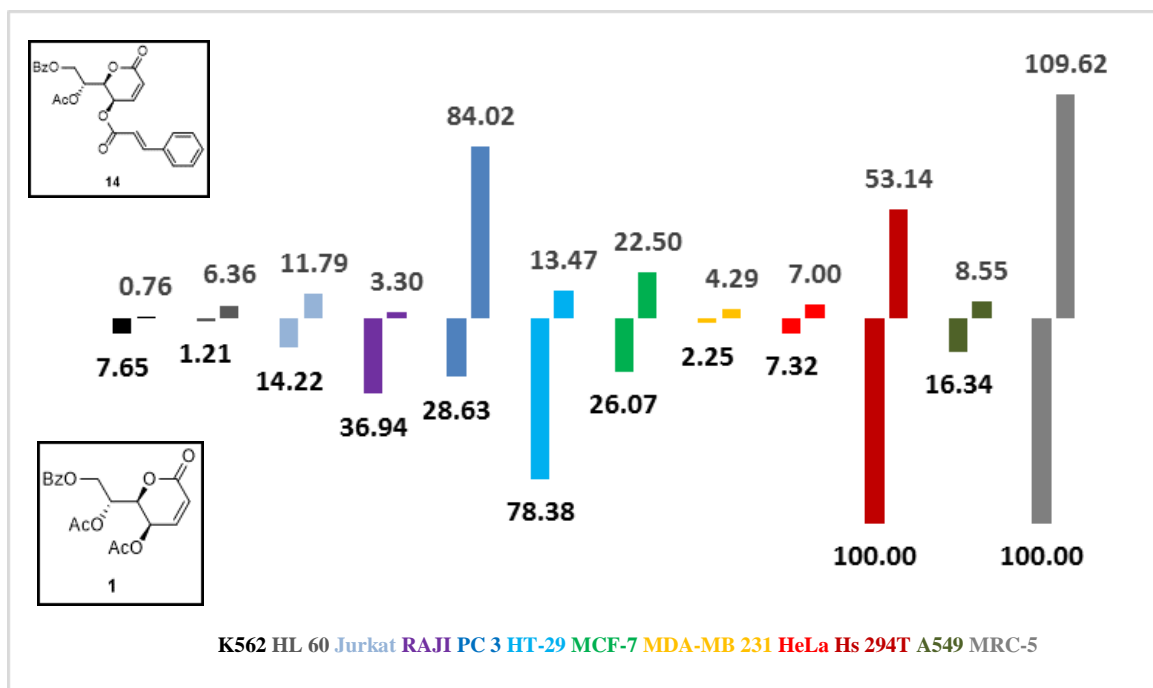
Redni broj	Jedinjenje	Minimalna inhibitorna koncentracija (MIC, µg/mL)		
		<i>S. aureus</i> NCTC 6571	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>S. aureus</i> ATCC 43300 (MRSA)
1	20	200.0 ± 0.9	250.0 ± 0.5	250.0 ± 3.9
3	29	250.0 ± 0.6	125.0 ± 2.4	125.0 ± 0.9
4	21	500.0 ± 4.4	500.0 ± 2.9	500.0 ± 0.9
8	19	500.0 ± 6.6	400.0 ± 5.4	400.0 ± 2.1
12	48	250.0 ± 1.7	300.0 ± 4.6	250.0 ± 0.9
14	45	125.0 ± 0.6	125.0 ± 0.5	125.0 ± 0.4
18	46	200.0 ± 0.4	350.0 ± 2.0	300.0 ± 1.0
22	40	250.0 ± 0.6	400.0 ± 7.7	400.0 ± 0.7

Sva jedinjenja u mikrodilucionim testovima (Tabela 3.7.1.) su pokazala nisku aktivnost na tri testirana *Staphilococcus* spp., u skladu sa testom diska koji je pokazao niske do blage aktivnosti protiv *S. aureus* NCTC 6571.

3.8 Identifikovanje veza između strukture sintetizovanih jedinjenja i njihove antiproliferativne aktivnosti (SAR)

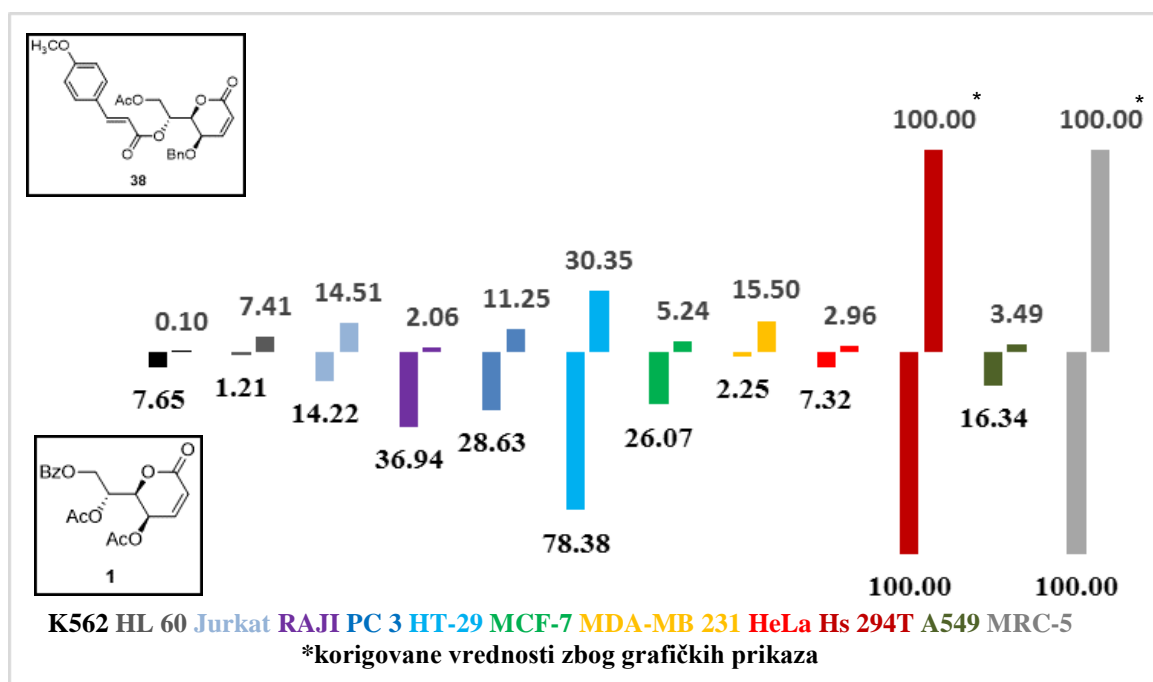
Poslednji deo doktorske disertacije je bilo uspostavanje korelacije između strukture i biološke aktivnosti sintetisanih jedinjenja. Na dijagramima (Slika 3.8., 3.8.1. i 3.8.2.) su prikazani odnosi najaktivnijeg C-4, C-6 analoga i 5-*epi*(-)-kleistenolida (**50**) sa prirodnim proizvodom (-)-kleistenolidom (**1**).

Na prvom dijagramu (Slika 3.8.) prikazan je odnos između najaktivnijeg C-4 analoga jedinjenja **14** koje je cinamoil analog sa prirodnim proizvodom (-)-kleistenolidom (**1**). Sa dijagrama se može videti da zamenom acetatne grupe u položaju C-4 nije došlo do promene u toksičnosti prema zdravoj ćelijskoj liniji, MRC-5. Prema tumorskim ćelijskim linijama jedina značajnija negativna promena je bila povišena IC₅₀ vrednost (84.03 µM) prema PC-3 ćelijskoj liniji. Značajne pozitivne promene se mogu videti prema ćelijskim linijama Jurkat, MCF-7, Hs294T i A549. Najznačajniji rezultati su dobijeni prema ćelijskoj liniji HT-29, s tim da je IC₅₀ vrednost opala na 13.47 µM, kod ćelijske linije Raji na IC₅₀ = 3.30 µM, a najbolji rezultat je dobijen prema ćelijskoj liniji K562 nakon uvođenja nove funkcionalne grupe, gde je dobijena submikromolarna aktivnost (IC₅₀ = 0.76 µM).



Slika 3.8.: Dijagram odnosa između najaktivnijeg C-4 analoga jedinjenja **14** (cinamoil analog) sa prirodnim proizvodom (–)-kleistenolidom (**1**).

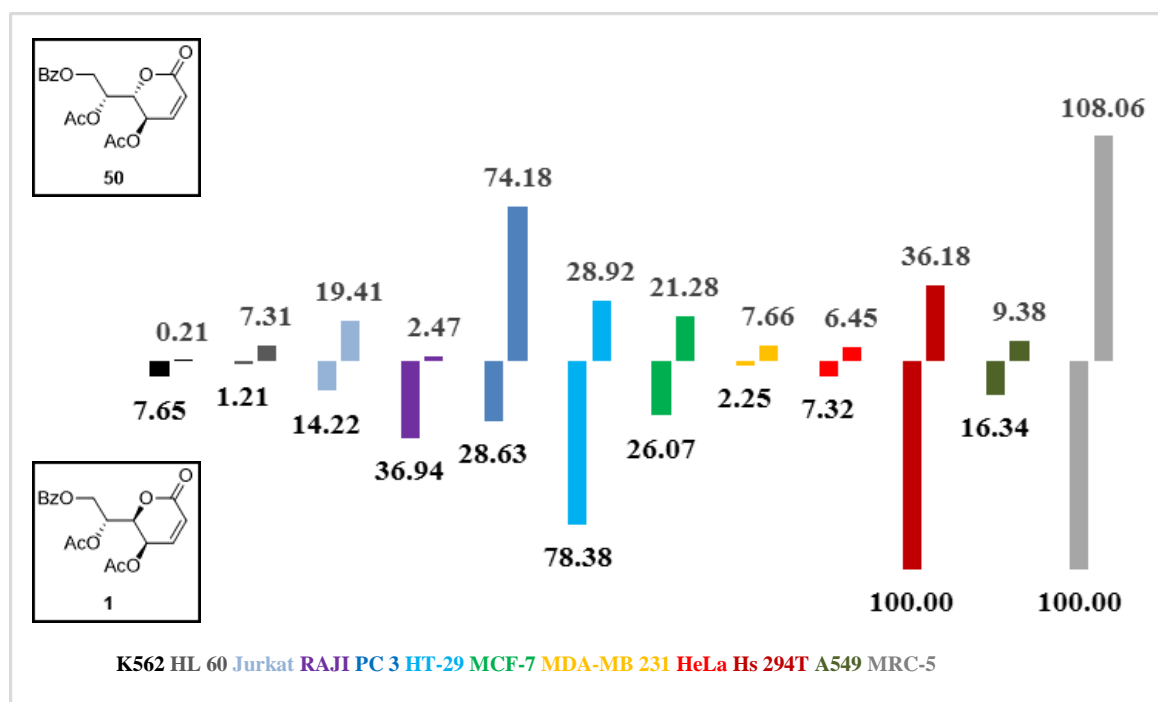
Na drugom diagramu (Slika 3.8.1.) prikazan je odnos između najaktivnijeg C-6 analoga jedinjenja **38** (*p*-metoksi-cinamoil analog) sa prirodnim proizvodom (–)-kleistenolidom (**1**). Na ovom diagramu urađena korekcija dve vrednosti i to za MRC-5 i Hs294T, prema ovim ćelijskim linijama analog **38** nije bio aktivan. Uvođenjem nove farmakofore u položaju C-6, dobijena je značajna promena.



Slika 3.8.1.: Dijagram odnosa između najaktivnijeg C-6 analoga jedinjenja **38** (*p*-metoksi-cinamoil analog) sa prirodnim proizvodom (–)-kleistenolidom (**1**).

Važno je napomenuti da nije došlo do značajnijeg negativnog rezultata, gde je najveći pad aktivnosti dobijen prema ćelijskoj liniji MDA-MB-231 ($IC_{50} = 15.50 \mu M$) što i dalje predstavlja značajnu aktivnost. Značajne pozitivne promene dobijene su prema ćelijskoj liniji A549 ($IC_{50} = 3.49 \mu M$), HeLa ($IC_{50} = 2.96 \mu M$) i HT-29 ($IC_{50} = 11.25 \mu M$). Rezultati koji se posebno ističu su sledeći: nakon uvođenja metoksicinamoil grupe dobijena je skoro 5 puta veća aktivnost prema ćelijskoj liniji MCF-7 sa ($IC_{50} = 5.24 \mu M$), a skoro 18 puta veća aktivnost prema tumorskoj ćelijskoj liniji Raji ($IC_{50} = 2.06 \mu M$). Dobijena je submikromolarna aktivnost i to prema ćelijskoj liniji K562 sa IC_{50} od $0,10 \mu M$ i time je više od 70 puta novi analog aktivniji od kleistenolida (**1**).

Na poslednji diagram (Slika 3.8.2.) prikazan je odnos između 5-*epi*-(-)-kleistenolida (**50**) i prirodnog proizvoda (-)-kleistenolida (**1**). U ovom slučaju nije uvedena nova farmakofora, posmatrano je da li će promena stereochemije ugljenika na položaju C-5 uticati na biološku aktivnost. Bitno je naglasiti, bazirano na dobijenim rezultatima da je analog **50** ostao potpuno netoksičan prema zdravoj ćelijskoj liniji.



Slika 3.8.2.: Dijagram odnosa između 5-*epi*-(-)-kleistenolida (**50**) i prirodnog proizvoda (-)-kleistenolida (**1**).

Značajnije oslabljenje aktivnosti je moglo samo da se uoči prema ćelijskoj liniji PC-3 ($IC_{50} = 74.18 \mu M$), dok se pozitivna promena može ustanoviti prema ćelijskim linijama A549, HeLa, MCF-7 i HT-29. Iako i dalje samo sa umerenom aktivnošću, 5-*epi*-(-)-kleistenolid je jedno od novosintetisanih jedinjenja koje je pokazalo aktivnost prema ćelijskoj liniji Hs294T sa IC_{50} vrednošću od $36.18 \mu M$. Najbolji rezultati su zabeleženi kod ćelijske linije Raji gde se novosintetisani analog pokazao skoro 15 puta aktivniji od prirodnog proizvoda (-)-kleistenolida (**1**).

Submikromolarna aktivnost je zabeležena prema leukemijskoj ćelijskoj liniji K562 ($IC_{50} = 0.21 \mu M$) i ovim je on više od 35 puta aktivniji od (-)-kleistenolida (**1**).

Dobro je poznato da je cinamoilna grupa dobra farmakofora, što se ispostavio tačnim i u ovom slučaju, te generalno može da se zaključi za C-6 analoge da su nešto aktivniji od C-4 i da se izmenom stereochemije može značajno uticati na biološku aktivnost novosintetizovanih jedinjenja.

4 EKSPERIMENTALNI DEO

Opšte metode — Tačke topljenja su određene na aparatu Büchi 510 i nisu korigovane. Vrednosti optičke rotacije su izmerene na automatskom polarimetru P 3002 (Krüss) na sobnoj temperaturi. IR Spektri su snimljeni na FT spektrofotometru Nexus 670 (ThermoNicolet, detektor DTGS), a položaj traka je dat u cm^{-1} . NMR spektri su snimljeni na instrumentu Bruker AC 250 E ili Bruker Avance III 400, a hemijska pomeranja su izražena u *ppm* vrednostima uz tetrametilsilan kao interni standard. Protonski NMR spektri su asignirani metodom *homo*-dekuplovanja, ili 2D COSY tehnikom. ^{13}C NMR Spektri su asignirani metodom selektivnog dekuplovanja. CI Maseni spektri snimljeni su na Finningan-MAT 8230 spektrometru uz izobutan kao reagens gas, dok su ES M-spektri snimljeni na sistemu Agilent Technologies HPLC/MS 3Q, serija 1200/6410. Reakcije su praćene na TLC alufolijama Kieselgel 60 F₂₅₄ (Merck). Hromatogrami su izazivani sa 50%-nom H₂SO₄ uz naknadno zagrevanje na 120 °C. Fleš hromatografija je urađena na kolonama Kieselgel 60 (0.040–0.063, E. Merck). Ekstrakti su sušeni anhidrovanim Na₂SO₄. Organski rastvarači su uparavani na rotacionom vakuum uparivaču na temperaturama vodenog kupatila do 40 °C.

4.1 3-O-Benzil-1,2:5,6-di-O-izopropiliden- α -D-glukofuranoza (3)

Rastvoru jedinjenja **2** (1.5 g, 5.76 mmol) u anh. DMF (30 mL) koji se intenzivno meša i hladi na 0 °C, doda se 95% NaH (0.277 g, 11.52 mmol) i nakon prestanka intenzivnog izdvajanja vodonika, se doda BnBr (0.9 mL, 7.49 mmol). Nakon 0.5 h hlađenje se prekine i mešanje nastavi na sobnoj temperaturi dodatnih 2 h. Reakciona smesa se upari i dobijeni ostatak se rasporedi između CH₂Cl₂ (3×40 mL) i H₂O (150 mL). Organske faze se odvoje, spoje, suše i upare, a sirova smesa se prečisti fleš hromatografijom (1:4 Et₂O/PE). Pri tome se dobija čisto jedinjenje **3** (1.977 g, 97%) u vidu bezbojnog gustog sirupa, $[\alpha]_{\text{D}} = -40$ (*c* 1.0, CHCl₃), lit³⁸. $[\alpha]_{\text{D}} = -26.4$ (*c* 1.2, CHCl₃); $R_f = 0.26$ (9:1 toluen/Et₂O) ili $R_f = 0.22$ (PE/Et₂O 4:1).

IR (film): ν_{max} 1602 i 1498 (Ph).

^1H NMR Spektar (CDCl₃): δ 1.32, 1.39, 1.45 i 1.51 (4×s, 3 H svaki, 2×Me₂C), 3.98–4.07 (m, 2 H, $J_{3,4}=3.0$, $J_{5,6a}=5.9$, $J_{6a,6b}=10.5$ Hz, H-3 i H-6a), 4.09–4.20 (m, 2 H, $J_{4,5}=7.0$, $J_{5,6b}=6.1$, $J_{6a,6b}=10.5$ Hz, H-4 i H-6b), 4.39 (m, 1 H, $J_{4,5}=7.0$, $J_{5,6a}=5.9$, $J_{5,6b}=6.1$ Hz, H-5), 4.60 (d, 1 H, $J_{1,2}=3.7$ Hz, H-2), 4.65 i 4.61 (2×d, 1 H svaki, $J_{\text{gem}}=11.8$ Hz, PhCH₂), 5.91 (d, 1 H, $J_{1,2}=3.7$ Hz, H-1), 7.30–7.40 (m, 5 H, Ph).

^{13}C NMR Spektar (CDCl_3): δ 25.38, 26.18, 26.73 i 26.77 ($2\times\text{CMe}_2$), 67.32 (C-6), 72.29 (PhCH_2), 72.45 (C-5), 81.24 (C-4), 81.61 (C-3), 82.57 (C-2), 108.22 (C-1), 108.90 i 111.71 ($2\times\text{Me}_2\text{C}$), 127.77, 128.33, 129.63, 137.57 (Ph).

HRMS: Izračunato za $\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{O}_6\text{Na}$: 373.1618. Nađeno: m/e 373.1622 (M^+Na).

4.2 3-O-Benzil-1,2-O-izopropiliden- α -D-glukofuranoza (4)

Rastvoru jedinjenja **2** (2.6 g, 10 mmol) u anh. DMF (50 mL) koje se intenzivno meša i hladi na 0°C doda se 95% NaH (0.72 g, 30 mmol) i nakon prestanka intenzivnog izdvajanja vodonika, se doda BnBr (1.56 mL, 13 mmol). Nakon 0.5 h hlađenje se prekine i mešanje nastavi na sobnoj temperaturi dodatnih 2 h. Reakciona smesa se upari do suva i dobijeni ostatak ekstrahuje sa CH_2Cl_2 (3×40 mL) iz H_2O (250 mL). Organske faze se spoje, suše i upare do suva, a dobijeni ostatak sirovog jedinjenja **3** se rastvori u 60% AcOH (50 mL) uz intenzivno mešanje na sobnoj temperaturi. Nakon 24 h reakcioni rastvor se azeotropno uparava sa toluenom do potpunog uklanjanja kiseline i vode. Ostatak se prečisti fleš hromatografijom (17:3 $\text{Et}_2\text{O}/\text{PE}\rightarrow\text{Et}_2\text{O}$) pri čemu se dobija čist proizvod **4** (2.78 g, 90%) u vidu bezbojne staklaste mase $[\alpha]_{\text{D}} = -50$ (CHCl_3 , c 1), lit^3 $[\alpha]_{\text{D}} = -46.2$ (CHCl_3 , c 1.5), lit^4 $[\alpha]_{\text{D}} = -53$ (1,1,2,2-tetrahaloroetan, c ?); $R_f = 0.46$ (Et_2O).

IR (film): ν_{max} 3446 (OH), 1498 (Ph) cm^{-1}

^1H NMR Spektar (CDCl_3): 1.31 i 1.48 ($2\times\text{s}$, svaki po 3 H, CMe_2), 2.98 (br s, 2 H, OH), 3.68 (dd, 1 H, $J_{5,6a}=5.3$ Hz, $J_{6a,6b}=11.5$ Hz, H-6a), 3.80 (dd, 1 H, $J_{5,6b}=3.2$ Hz, $J_{6a,6b}=11.5$ Hz, H-6b), 4.02 (m, 1 H, H-5), 4.10 (m, 2 H, H-3 i H-4), 4.58 i 4.71 ($2\times\text{d}$, 2 H, $J_{\text{gem}}=11.7$ Hz, PhCH_2), 4.62 (d, 1 H, $J_{1,2}=3.8$ Hz, H-2), 5.93 (d, 1 H, $J_{1,2}=3.7$ Hz, H-1), 7.29–7.45 (m, 5 H, Ph).

^{13}C NMR Spektar (CDCl_3): 26.10 i 26.60 ($2\times\text{CMe}_2$), 64.20 (C-6), 69.04 (C-5), 72.07 (PhCH_2), 79.81 i 81.80 (C-3 i C-4), 82.02 (C-2), 105.02 (C-1), 127.75, 127.80, 128.59, 128.46, 137.17 (Ph).

4.3 3-O-Benzil-6-O-benzoil-1,2-O-izopropiliden- α -D-glukofuranoza (5)

A) Rastvoru jedinjenja **4** (0.107 g, 0.34 mmol) u smesi anh. CH_2Cl_2 (6 mL) i anh. Py (0.85 mL) koji se hladi na -18°C , se doda hladni (4°C) BzCl (0.05 mL, 0.40 mmol). Nakon 72 h hlađenje se prekine i mešanje nastavi dodatnih 24 h na sobnoj temperaturi. Reakcioni rastvor se izlije u 10% NaCl (50 mL), ekstrahuje sa CH_2Cl_2 (2×15 mL) i doekstrahuje sa EtOAc (20 mL). Organske faze se

³ Sabitha, G.; Reddy, G. S. K. K.; Reddy, K. B.; Reddy, N. M.; Yadav, J. S. *J. Mol. Catal. A: Chem.* **2005**, 238, 229.

⁴ K. Freudenberg, W. Dürr, H. von Hochstetter, *Berichte Der Deutschen Chemischen Gesellschaft*, **61**, 1735, (1928).

spoje, suše i upare do suva, a dobijeni ostatak se prečisti fleš hromatografijom (1:2 Et₂O/PE) pri čemu se dobija čist proizvod **5** (0.120 g, 84%) u obliku bezbojne staklaste mase.

B) Rastvoru jedinjenja **4** (0.127 g, 0.41 mmol) i imidazola (0.139 g, 2.05 mmol) u anh. CH₂Cl₂ (6 mL) koji se intenzivno meša na sobnoj temperaturi, se polako doda BzCl (0.07 mL, 0.62 mmol). Nakon 1 h doda se nova porcija imidazola (0.139 g, 2.05 mmol) i mešanje nastavi dodatnih 18 h pa se reakcioni rastvor izlije u 10% NaCl (50 mL), ekstrahuje sa CH₂Cl₂ (2×15 mL) i doekstrahuje sa EtOAc (20 mL). Organske faze se spoje, suše i upare do suva, a dobijeni ostatak se prečisti fleš hromatografijom (3:7 Et₂O/PE) pri čemu se dobija čist proizvod **5** (0.140 g, 83%) u obliku bezbojnog sirupa⁵, $[\alpha]_D = -37.7$ (CHCl₃, *c* 1), lit⁶ $[\alpha]_D = -30$ (CHCl₃, *c* 1.8); *R_f* = 0.25 (3:7 Et₂O/PE).

IR (film): ν_{\max} 3489 (OH), 1720 (C=O), 1602 i 1585 (C–C, aromat) i 1165 (OC=O, estar).

¹H NMR Spektar (CDCl₃): 1.33 i 1.49 (2×s, svaki po 3 H, CMe₂), 2.70 (bs, 1 H, OH), 4.17 (d, 1 H, *J*_{3,4}=2.9 Hz, H-3), 4.25 (dd, 1 H, *J*_{3,4}=2.9 Hz, *J*_{4,5}=8.0 Hz, H-4), 4.34 (m, 1 H, H-5), 4.45 (dd, 1 H, *J*_{5,6a}=5.7 Hz, *J*_{6a,6b}=11.5 Hz, H-6a), 4.60 (d, 1 H, *J*_{gem}=11.8 Hz, PhCH₂), 4.63-4.69 (m, 2 H, H-2 i H-6b), 4.74 (d, 1 H, *J*_{gem}=11.8 Hz, PhCH₂), 5.98 (d, 1 H, *J*_{1,2}=3.7 Hz, H-1), 7.29–8.13 (m, 10 H, Ph).

¹³C NMR Spektar (DMSO-d₆): 26.22 i 26.69 (2×CMe₂), 67.08 (C-6), 67.79 (C-5), 72.12 (PhCH₂), 79.47 (C-4), 81.64 (C-3), 82.05 (C-2), 105.17 (C-1), 111.75 (CMe₂), 127.71, 128.04, 128.22, 128.54, 129.59, 129.81, 132.97, 137.15 (Ph), 166.87 (COPh).

HRMS: Izračunato za C₂₃H₂₇O₇: 415.1751. Nađeno: 415.1753 (M⁺+H).

4.4 5-O-Acetil-3-O-benzil-6-O-benzoil-1,2-O-izopropiliden- α -D-glukofuranoza (**6**)

A) Rastvoru jedinjenja **4** (1.577 g, 5.08 mmol) i BzCl (0.59 mL, 5.08 mmol) u anh. CH₂Cl₂ (32 mL) koji se meša na sobnoj temperaturi, se doda DMAP (1.862 g, 15.24 mmol). Nakon 1 h se doda prvo AcCl (0.54 mL, 7.62 mmol) i potom DMAP (1.242 g, 10.16 mmol). Posle dodatnih 1 h mešanja na sobnoj temperaturi, reakcioni rastvor se izlije u 10% NaCl (200 mL) i ekstrahuje sa CH₂Cl₂ (4×30 mL). Spojene organske faze se isperu sa 10% NaCl (100 mL), suše i upare, a dobijeni ostatak se dva puta prečisti fleš hromatografijom (3:7 Et₂O/PE) pri čemu se dobija čist proizvod **6** (1.972 g, 85%) u vidu bezbojne staklaste mase.

⁵ A. S. Meyer; T. Reichstein, *Helv.Chim. Acta.* **29**, 152, (1946).

⁶ Rita Pal, (2008): “*Synthetic Studies Toward Superstolide A, Centrolobine and Some Radical Rearrangement*”, Ph.D, Division of Organic Chemistry: Technology, National Chemical Laboratory, Pune - 411 008. Reg. No E1/83/Ph.D/2005, <http://www.ncl-india.org>

B) Rastvoru jedinjenja **5** (0.120 g, 0.29 mmol) u Ac₂O (4 mL) koji se intenzivno meša na sobnoj temperaturi doda se *p*-TSA×H₂O (0.011 g, 0.06 mmol). Nakon 3 h reakcioni rastvor se azeotropno uparava sa toluenom do potpunog uklanjanja Ac₂O, a dobijeni ostatak se prečisti fleš hromatografijom (3:7 Et₂O/PE) pri čemu se dobija čist proizvod **6** (0.120 g, 91%) u obliku bezbojne staklaste mase.

C) Rastvor jedinjenja **3** (2.9 g, 8.28 mmol) u 60% AcOH (60 mL) se intenzivno meša na sobnoj temperaturi u toku 24 h. Reakcioni rastvor se azeotropno uparava sa toluenom do potpunog uklanjanja kiseline i vode, a dobijeni ostatak se suši preko noći u visokom vakuumu. Rastvoru sirovog jedinjenja **4** i BzCl (0.96 mL, 8.28 mmol) u anh. CH₂Cl₂ (75 mL) koji se meša na sobnoj temperaturi, se doda DMAP (3.033 g, 24.83 mmol). Nakon 1 h sukcesivno se dodaju AcCl (0.88 mL, 12.42 mmol) i DMAP (2.60 g, 21.28 mmol). Nakon 1 h dodatnog mešanja na sobnoj temperaturi, reakcioni rastvor se izlije u 10% NaCl (300 mL) i ekstrahuje sa CH₂Cl₂ (3×40 mL). Spojene organske faze se isperu sa 10% NaCl (200 mL), suše i upare, a dobijeni ostatak se dva puta prečisti fleš hromatografijom (3:7 Et₂O/PE) pri čemu se dobija čist proizvod **6** (2.6 g, 69%) u vidu bezbojne staklaste mase koja kristališe iz smese Et₂O/heksan u obliku debelih bezbojnih iglica, *t*_m 96 – 97 °C, lit.⁷ *t*_m 95 – 96 °C, [α]_D = –64.2 (CHCl₃, *c* 0.5), lit.³⁸ [α]_D = –67.1 (CHCl₃, *c* 1.222); R_f = 0.25 (1:3 Et₂O/PE).

IR (film): ν_{max} 1748 i 1724 (2×C=O), 1602 i 1585 (C–C, aromat.) i 1165 (OC=O, estar).

¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 1.35 i 1.51 (2×s, 3 H svaki, Me₂C), 1.91 (s, 3 H, Ac), 3.99 (d, 1 H, J_{3,4}=3.1 Hz, H-3), 4.34–4.52 (m, 3 H, CH₂Ph, H-4, H-6a), 4.66 (d, 1 H, J_{1,2}=3.7 Hz, H-2), 4.66 (d, 1 H, J_{gem}=11.7 Hz, CH₂Ph), 4.92 (dd, 1 H, J_{5,6b}=2.1 Hz, J_{6a,6b}=12.3 Hz, H-6b), 5.50 (ddd, 1 H, J_{5,6b}=2.1 Hz, J=5.0 Hz, J=8.5 Hz, H-5), 5.96 (d, 1 H, J_{1,2}=3.7 Hz, H-1), 7.28–8.18 (m, 10 H, Ph).

¹³C NMR Spektar (CDCl₃): δ 20.82 (MeCO), 26.25 i 26.75 (Me₂C), 63.67 (C-6), 68.49 (C-5), 71.89 (CH₂Ph), 77.79 (C-4), 80.41 (C-3), 81.64 (C-2), 105.19 (C-1), 111.94 (Me₂C), 128.04, 128.19, 128.26, 128.49, 129.58, 130.01, 132.89, 136.77 (Ph), 166.07 (COPh), 169.48 (MeCO).

HRMS: Izračunato za C₂₅H₂₈O₈K: 495.1416. Nađeno: *m/e* 495.1410 (M⁺+K).

4.5 5-O-Acetil-3-O-benzil-6-O-benzoil-α-D-glukofuranoza (7)

A) Rastvoru jedinjenja **6** (0.295 g, 0.65 mmol) u CH₂Cl₂ (3 mL) koji se meša na 0 °C se doda 90% aq. TFA (6 mL). Nakon 0.5 h hlađenje se prekine i reakcija nastavi na sobnoj temperaturi dodatnih 2.5 h. Reakcioni rastvor se azeotropno upari sa toluenom do potpunog uklanjanja kiseline i vode, a

⁷ A. S. Meyer; T. Reichstein, Helv.Chim. Acta. **29**, 152 (1946).

dobijeni ostatak se prečisti fleš hromatografijom (3:7 PE/Et₂O) pri čemu se dobija čisti proizvod **7** (0.25 g, 93%).

B) Rastvor jedinjenja **3** (2 g, 5.71 mmol) u 60% AcOH (40 mL) se intenzivno meša na sobnoj temperaturi tokom 24 h. Reakcioni rastvor se azeotropno uparava sa toluenom do potpunog uklanjanja kiseline i vode, a dobijeni ostatak se suši preko noći u visokom vakuumu. Rastvoru sirovog jedinjenja **4** i BzCl (0.7 mL, 6 mmol) u anh. CH₂Cl₂ (50 mL) koji se meša na sobnoj temperaturi, se doda DMAP (2.09 g, 17.12 mmol). Nakon 1 h se doda prvo AcCl (0.61 mL, 8.56 mmol) i potom DMAP (2.09 g, 17.12 mmol). Nakon 1 h dodatnog mešanja na sobnoj temperaturi, reakcioni rastvor se izlije u 10% NaCl (200 mL) i ekstrahuje sa CH₂Cl₂ (3×35 mL). Spojene organske faze se isperu sa 10% NaCl (100 mL), suše i upare. Rastvoru sirovog **6** u CH₂Cl₂ (20 mL) koji se meša na 0 °C se doda 90% aq TFA (40 mL). Nakon 0.5 h hlađenje se prekine i reakcija nastavi na sobnoj temperaturi dodatnih 2.5 h. Reakcioni rastvor se azeotropno upari sa toluenom do potpunog uklanjanja kiseline i vode, a dobijeni ostatak se prečisti fleš hromatografijom (3:7 PE/Et₂O) pri čemu se dobija čisti proizvod **7** (2.07 g, 87%) u obliku bezbojne staklaste mase koja nakon sušenja u visokom vakuumu prelazi u belu čvrstu masu. Rekristalizacijom iz smese CH₂Cl₂/n-heksan u obliku beloga praha tt 130–132 °C, $[\alpha]_D = + 62.4$ (CHCl₃, *c* 0.5); *R_f* = 0.31 (3:7 PE/Et₂O).

IR (KBr): ν_{\max} 3428 (OH), 1695 (C=O), 1602 i 1584 (C–C, aromat) i 1180 (OC=O, estar).

¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 1.95 (s, 9.5 H, MeCO), 3.50 (bs, OH), 3.96–5.52 (skeletni vodonici i CH₂Ph), 5.23 (s, 1 H, H-1 β), 5.54 (d, 1 H, *J*_{1,2}=4.0 Hz, H-1 α), 7.29–8.07 (m, 30 H, Ph).

¹³C NMR Spektar (CDCl₃): 21.23 (MeCO), 64.23 (C-6 β), 64.33 (C-6 α), 69.50, 69.79, 72.31, 73.00, 74.80, 77.03, 77.29, 79.24, 81.65, 82.83, 97.06 (C-1 α), 104.02 (C-1 β), 128.28, 128.35, 128.69, 128.72, 128.80, 129.00, 129.98, 130.09, 133.45, 136.63, 137.45 (Ph), 166.92 (COPh), 170.31 (MeCO).

HRMS: Izračunato za C₂₂H₂₈NO₈: 434.1809. Nađeno: 434.1802 (M⁺+NH₄).

4.6 Metil (2'Z)-4,6,7-tri-O-benzil-2,3-dideoksi-D-arabino-hept-2-enoat (8)

A) Rastvoru jedinjenja **7** (1.97 g, 4.73 mmol) u aps. MeOH (20 mL) koji se intenzivno meša na sobnoj temperaturi, se doda H₅IO₆ (1.187 g, 6.18 mmol). Nakon 1.5 h, reakcioni rastvor se razblaži sa aps MeOH (37 mL) pa se doda prva porcija MCMP (1.74 g, 5.17 mmol) i nakon 1 h druga porcija MCMP (2.216 g, 6.59 mmol). Nakon 20 h, reakcioni rastvor se upari do suva, a dobijeni ostatak se rastvori u CH₂Cl₂ i upari sa silikagelom. Ostatak se prvo dva puta prečisti fleš

hromatografijom (1:1 PE/Et₂O) i potom sa (49:1 CH₂Cl₂/Me₂CO) pri čemu se dobija čisti proizvod **8** (1.779 g, 85%).

B) Rastvoru jedinjenja **4** (3.651 g, 7.998 mmol) u CH₂Cl₂ (20 mL) koji se meša na 0 °C, doda se 90% aq TFA (40 mL). Nakon 0.5 h hlađenje se prekine i reakcija nastavi na sobnoj temperaturi dodatnih 3 h. Reakcioni rastvor se azeotropno upari sa toluenom do potpunog uklanjanja kiseline i vode, a dobijeni ostatak se suši u visokom vakuumu preko noći pri čemu se dobija sirovi proizvod **7**. Ostatak sirovog **7** se uz intenzivno mešanje rastvori u aps. MeOH (150 mL) i doda NaIO₄ (1.972 g, 9.198 mmol). Nakon 2 h se doda MCMP (4.41 g, 13.2 mmol) i mešanje nastavi dodatnih 20 h. Reakcioni rastvor se upari do suva, a dobijeni ostatak se rastvori u CH₂Cl₂ i upari sa silikagelom. Ostatak se dva puta prečisti fleš hromatografijom (1:1 PE/Et₂O) pri čemu se dobija čisti proizvod **8** (1.832 g, 52%) u obliku bezbojnog sirupa, [α]_D = -33.4 (CHCl₃, c 1); R_f = 0.45 (1:1 PE/Et₂O).

IR (film): ν_{\max} 3482 (OH), 1722 (C=O), 1602 i 1585 (C–C, aromat.) i 1179 (OC=O, estar).

¹H NMR Spektar (CDCl₃): δ 2.05 (s, 3 H, MeCO), 2.80 (bs, 1 H, OH), 3.71 (s, 3 H, MeCO), 3.89 (dd, 1 H, $J_{4,5}=2.7$ Hz, $J_{5,6}=8.2$ Hz, H-5), 4.44 (d, 1 H, $J_{\text{gem}}=11.2$ Hz, CH₂Ph), 4.57 (dd, $J_{6,7a}=5.8$ Hz, $J_{7a,7b}=12.2$ Hz, H-7a), 4.59 (d, $J_{\text{gem}}=11.2$ Hz, CH₂Ph), 4.78 (dd, 1 H, $J_{6,7b}=2.4$ Hz, $J_{7a,7b}=12.2$ Hz, H-7b), 5.22 (ddd, 1 H, $J_{2,4}=1.1$ Hz, $J_{4,5}=2.7$ Hz, $J_{3,4}=8.9$ Hz, H-4), 5.36 (ddd, 1 H, $J_{6,7b}=2.4$ Hz, $J_{6,7a}=5.8$ Hz, $J_{5,6}=8.2$ Hz, H-6), 6.08 (dd, 1 H, $J_{2,4}=1.1$ Hz, $J_{2,3}=11.7$ Hz, H-2), 6.42 (dd, 1 H, $J_{2,3}=11.7$ Hz, $J_{3,4}=8.9$ Hz, H-3), 7.31–8.07 (m, 10 H, Ph).

¹³C NMR Spektar (CDCl₃): δ 20.89 (MeCO), 51.44 (MeCO), 63.46 (C-7), 70.87 (C-6), 71.56 (CH₂Ph), 72.52 (C-5), 72.73 (C-4), 122.95 (C-2), 127.98, 128.25, 128.30, 128.38, 128.46, 129.64, 129.66, 129.84, 132.98, 137.20, (Ph), 146.96 (C-3), 165.95 (MeCO), 166.36 (COPh) i 170.09 (MeCO).

HRMS: Izračunato za C₂₄H₂₇O₈: 443.1700. Nađeno: m/e 443.1703 (M⁺+H).

4.7 6-O-Acetil-4-O-benzil-7-O-benzoil-2,3-dideoksi-D-arabino-hept-2-en-1,5-lakton (**9**)

Rastvoru jedinjenja **8** (0.54 g, 1.22 mmol) u anh. CH₂Cl₂ (54 mL) se uz mešanje na sobnoj temperaturi doda *p*-TSA×H₂O (0.024 g, 0.13 mmol). Nakon 48 h reakcioni rastvor se upari, a dobijeni ostatak se prečisti fleš hromatografijom (2:3 PE/Et₂O) pri čemu se sa kolone prvo eluira polazno **5** (0.051 g, 9%), a zatim i čist proizvod **9** (0.452 g, 90%) koji kristališe iz smese Et₂O(tragovi)/CH₂Cl₂/heksan u vidu belog praha, tt 100 °C, [α]_D = -222.2 (CHCl₃, c 0.5); R_f = 0.30 (3:2 PE/Et₂O).

IR (KBr): ν_{\max} 1741 i 1728 (2×C=O), 1602 i 1585 (C–C, aromat.) i 1177 (OC=O, estar).

IR (film): ν_{\max} 1732 (C=O), 1602 i 1584 (C–C, aromat.) i 1177 (OC=O, estar).

^1H NMR Spektar (CDCl_3): δ 2.08 (s, 3 H, MeCO), 4.05 (dd, 1 H, $J_{4,5}=2.7$ Hz, $J_{3,4}=5.6$ Hz, H-4), 4.51 i 4.61 (2×d, 2 H, $J_{\text{gem}}=11.8$ Hz, CH_2Ph), 4.54 (dd, 1 H, $J_{6,7a}=4.20$ Hz, $J_{7a,7b}=12.6$ Hz, H-7a), 4.66 (dd, 1 H, $J_{4,5}=2.6$ Hz, $J_{5,6}=8.8$ Hz, H-5), 5.03 (dd, 1 H, $J_{7a,7b}=12.5$ Hz, $J_{6,7a}=2.3$ Hz, H-7b), 5.62 (ddd, 1 H, $J_{6,7b}=2.3$ Hz, $J_{6,7a}=4.2$ Hz, $J_{5,6}=8.8$ Hz, H-6), 6.24 (d, 1 H, $J_{2,3}=9.8$ Hz, H-2), 7.03 (dd, 1 H, $J_{2,3}=9.8$ Hz, $J_{3,4}=5.6$ Hz, H-3), 7.28–8.07 (m, 10 H, Ph).

^{13}C NMR Spektar (CDCl_3): δ 20.75 (MeCO), 61.82 (C-7), 63.96 (C-4), 68.54 (C-6), 71.14 (CH_2Ph), 76.93 (C-5), 124.45 (C-2), 128.16, 128.32, 128.34, 128.58, 129.54, 129.65, 133.07, 136.63 (Ph), 142.41 (C-3), 161.60 (C-1), 165.95 (COPh), 169.29 (MeCO).

HRMS: Izračunato za $\text{C}_{23}\text{H}_{22}\text{O}_7\text{K}$: 449.0997. Nađeno: m/e 449.0990 (M^++K).

4.8 6-O-Acetil-7-O-benzoil-2,3-dideoksi-D-arabino-hept-2-en-1,5-lakton (10)

Rastvoru jedinjenja **9** (0.115 g, 0.28 mmol) u anh. CH_2Cl_2 (6 mL) se uz mešanje na sobnoj temperaturi doda 0.66% rastvor TiCl_4 (1.88 mL, 0.56 mmol) u anh. CH_2Cl_2 . Nakon 24 h reakcionim rastvor se izlije u 10% NaHCO_3 (50 mL) i nastala suspenzija ekstrahuje sa CH_2Cl_2 (4×20 mL). Organske faze se isperu sa 10% NaCl (50 mL), suše i upare, a dobijeni ostatak se prečisti fleš hromatografijom (Et_2O) pri čemu se dobija čisti proizvod **10** (0.064 g, 71%) u vidu bele čvrste mase koja se topi na 118 – 120 °C. Rekristalizacijom iz CH_2Cl_2 /n-heksan dobija se beli prah, t_{m} 124 °C, $[\alpha]_{\text{D}} = -32.0$ (c 0.5, CHCl_3), lit.⁹ $[\alpha]_{\text{D}} = -29.5$ (c 0.45, CHCl_3); $R_f = 0.3$ (Et_2O).

IR (KBr): ν_{\max} 3420 (OH), 1743 i 1727 (2×C=O), 1600 i 1584 (C–C, aromat.) i 1182 (OC=O, estar).

IR (film): ν_{\max} 3440 (OH), 1727 (C=O), 1602 i 1584 (C–C, aromat.) i 1177 (OC=O, estar).

^1H NMR Spektar (CDCl_3): δ 2.12, (s, 3 H, MeCO), 3.69 (br s, H, OH), 4.25 (t, 1 H, $J=5.0$ Hz, H-4), 4.52–4.63 (m, 2 H, H-5 i H-7a), 4.95 (dd, 1 H, $J_{7a,7b}=12.5$ Hz, $J_{6,7b}=2.0$ Hz, H-7b), 5.52 (ddd, 1 H, $J_{6,7b}=2.2$ Hz, $J_{6,7a}=4.9$ Hz, $J_{5,6}=9.5$ Hz, H-6), 5.91 (dd, 1 H, $J_{4,5}=2.4$ Hz, $J_{5,6}=8.4$ Hz, H-5), 6.15 (d, 1 H, $J_{2,3}=9.7$ Hz, H-2), 7.04 (dd, 1 H, $J_{2,3}=9.7$ Hz, $J_{3,4}=3.6$ Hz, H-3), 7.34–8.08 (m, 5 H, Ph).

^{13}C NMR Spektar (CDCl_3): δ 20.93 (MeCO), 59.30 (C-4), 62.46, (C-7), 69.11 (C-6), 77.62 (C-5), 123.16 (C-2), 128.50, 129.60, 129.74, 133.33 (Ph), 143.73 (C-3), 162.43 (C-1), 166.31, (COPh), 170.83 (MeCO).

HRMS: Izračunato za $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{O}_7\text{Na}$: 343.0788. Nađeno: m/e 343.0787 (M^++Na).

4.9 (-)-Kleistenolid (1)

A) Rastvoru jedinjenja **9** (0.2 g, 0.49 mmol) u anh. CH₂Cl₂ (8 mL) se uz mešanje na sobnoj temperaturi sukcesivno dodaju hladni (+ 4 °C) 5%-tni rastvor AcBr (3.75 mL, 2.32 mmol) u anh. CH₂Cl₂ i FeCl₃ (0.008 g, 0.05 mmol). Nakon 2 h reakcioni rastvor se upari do suva, a dobijeni ostatak se prečisti fleš hromatografijom (1:2 PE/Et₂O) pri čemu se dobija čisti proizvod **1** (0.143 g, 81%) u vidu bele čvrste mase.

B) Rastvoru jedinjenja **9** (0.143 g, 0.35 mmol) u anh. CH₂Cl₂ (5 mL) se uz mešanje na sobnoj temperaturi sukcesivno dodaju 5%-tni rastvor AcBr (2.6 mL, 1.77 mmol) u anh. CH₂Cl₂ i Zn(OTf)₂ (0.006 g, 0.018 mmol). Nakon 1 h dodaju se tri nove porcije Zn(OTf)₂ (0.006 g, 0.018 mmol; 0.012 g, 0.036 mmol i 0.024 g, 0.072 mmol) sa razmakom od 1 h i reakcija nastavi na sobnoj temperaturi dodatnih 20 h. Reakcioni rastvor se upari do suva, a dobijeni ostatak se prečisti fleš hromatografijom (1:2 PE/Et₂O) pri čemu se dobija čisti proizvod **1** (0.12 g, 94%) u vidu bele čvrste mase.

C) Suspenziji jedinjenja **10** (0.176 g, 0.55 mmol) u Ac₂O (5 mL, 10.6 mmol) se uz mešanje na sobnoj temperaturi doda *p*-TSA×H₂O (0.005 g, 0.026 mmol). Nakon 4 h reakcioni rastvor se azeotropno uparava sa toluenom do potpunog uklanjanja Ac₂O, a dobijeni ostatak se prečisti fleš hromatografijom (1:2 PE/Et₂O) pri čemu se dobija čisti proizvod **1** (0.19 g, 95%) u vidu bele čvrste mase *t*_t 135. °C, *lit.*⁵ *t*_t 133 – 134 °C, [α]_D = – 212.2 (*c* 0.5, CHCl₃) ili [α]_D = – 212.4 (*c* 0.5, CH₂Cl₂), *lit.*⁵ [α]_D = – 164.6 (*c* 0.48, CH₂Cl₂). Rekristalizacijom iz Et₂O/*n*-heksan dobijaju se bele voluminozne iglice *t*_t 138 °C; *R*_f = 0.36 (3:7 PE/Et₂O).

IR (KBr): *v*_{max} 1752 i 1732 (2×C=O), 1601 (C–C, aromat.) i 1183 (OC=O, estar).

IR (film): *v*_{max} 1751 i 1736 (2×C=O), 1601 (C–C, aromat.) i 1180 (OC=O, estar).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 2.06 i 2.11 (2×s, 3 H svaki, 2×MeCO), 4.54 (dd, 1 H, *J*_{6,7a}=4.5, *J*_{7a,7b}=12.5 Hz, H-7a), 4.82 (dd, 1 H, *J*_{5,6}=9.6, *J*_{4,5}=2.7 Hz, H-5), 4.94 (dd, 1 H, *J*_{6,7b}=2.4, *J*_{7a,7b}=12.5 Hz, H-7b), 5.44 (dd, 1 H, *J*_{3,4}=6.1, *J*_{4,5}=2.7 Hz, H-4), 5.53 (ddd, 1 H, *J*_{5,6}=9.6, *J*_{6,7a}=4.5, *J*_{6,7b}=2.4 Hz, H-6), 6.30 (d, 1 H, *J*_{2,3}=9.7 Hz, H-2), 7.01 (dd, 1 H, *J*_{2,3}=9.7, *J*_{3,4}=6.1 Hz, H-3), 7.42–8.08 (m, 5 H, Ph).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 20.5 and 20.7 (2×MeCO), 59.8 (C-4), 62.0 (C-7), 67.7 (C-6), 75.5 (C-5), 125.4 (C-2), 128.5, 129.6, 129.7, 133.3 (Ph), 139.7 (C-3), 161.1 (C-1), 166.0 (COPh), 169.5 and 169.9 (2×MeCO).

HRMS: Izračunato za C₁₈H₁₈O₈Na: 385.0894. Nađeno: *m/e* 385.0897 (M⁺+Na).

4.10 6-*O*-Acetil-4-*O*-(2,4,6-trihlorobenzoil)-7-*O*-benzoil-2,3-dideoksi-D-arabino-hept-2-en-1,5-lakton (11)

Rastvoru jedinjenja **9** (0.1 g, 0.24 mmol) i 2,4,6-trihlorobenzoil hlorida (0.12 mL, 0.73 mmol) u anh. CH₂Cl₂ (10 mL) se uz mešanje doda FeCl₃ (0.012 g, 0.07 mmol). Nakon 24 h reakcioni rastvor se upari, a dobijeni ostatak prečisti fleš hromatografijom (1:1 Et₂O/PE) pri čemu se dobija čisto **11** (0.055 g, 43%) u vidu staklaste mase koja kristalizacijom iz CH₂Cl₂/n-heksan daje beli prah *t_t* 176 – 177 °C, $[\alpha]_D = -199$ (CHCl₃, *c* 0.1); *R_f* = 0.46 (3:7 EtOAc/PE).

IR (film): ν_{\max} 1747 (C=O, lakton), 1601 i 1580 (C–C, aromat) i 1177 (OC=O, estar).

¹H NMR Spektar (CDCl₃): 2.09, (s, 3 H Ac) 4.52, (dd, 1 H, *J*_{7a,6}=3.2 Hz, *J*_{7a,7b}=12.7 Hz, H-7a), 4.93, (dd, 1 H, *J*_{4,5}=2.3 Hz, *J*_{5,6}=9.5 Hz, H-5), 5.07, (bd, 1 H, *J*_{6,7b}=2.3 Hz, *J*_{7a,7b}=12.7 Hz, H-7b), 5.37, (dt, 1 H, *J*_{6,7b}=2.5 Hz, *J*_{6,7a}=3.0 Hz, *J*_{5,6}=9.5 Hz, H-6), 5.60, (dd, 1 H, *J*_{4,5}=2.3 Hz, *J*_{3,4}=6.0 Hz, H-4), 6.36, (d, 1 H, *J*_{2,3}=9.7 Hz, H-2), 7.26, (dd, 1 H, *J*_{3,4}=6.0 Hz, *J*_{2,3}=9.6 Hz, H-3), 7.43–8.07, (m, 5 H, Ph iz Bz), 8.37, (s, 2 H, Ph).

¹³C NMR Spektar (CDCl₃): 20.84, (Me iz 2 Ac), 61.00, (C-4), 62.85, (C-7), 68.61, (C-6), 75.07, (C-5), 125.99, (C-2), 128.27, (C-3' i C-5'), 128.52, 129.59, 129.70, 133.32, (Bz), 130.25, 132.68, 137.12, (C-2', C-6' i C-4'), 138.99, (C-3), 160.78, (C1), 163.06, (COPhCl₃), 165.97, (COPh), 169.16, (OCOCH₃)

HRMS: Izračunato za C₂₃H₁₇Cl₃O₈Na: 548.98867. Nađeno: 548.98770 (M⁺+Na).

4.11 6-*O*-Acetil-4-*O*-(3-metoksibenzoil)-7-*O*-benzoil-2,3-dideoksi-D-arabino-hept-2-en-1,5-lakton (12)

A) Rastvoru jedinjenja **10** (0.094 g, 0.29 mmol) i 3-metoksibenzoil hlorida (0.1 mL, 0.73 mmol) u anh. CH₂Cl₂ (3 mL) i anh. Py (3 mL). Nakon 2,5 h reakcioni rastvor se azeotropno upari sa toluenom, a dobijeni ostatak prečisti fleš hromatografijom (PE/EtOAc 6:4) i (CH₂Cl₂/Me₂CO 199:1) pri čemu se dobija čisto **12** (0.098 g, 74%).

B) Rastvoru jedinjenja **9** (0.1 g, 0.24 mmol) i 3-metoksibenzoil hlorida (0.1 mL, 0.73 mmol) u anh. CH₂Cl₂ (10 mL) se uz mešanje doda FeCl₃ (0.012 g, 0.07 mmol). Nakon 24 h reakcioni rastvor se upari, a dobijeni ostatak prečisti fleš hromatografijom, prvo sa (1:1 Et₂O/PE) i potom sa (2:3→7:13→3:7 EtOAc/PE) pri čemu se dobija čisto **12** (0.088 g, 79%) u vidu staklaste mase $[\alpha]_D = -296$ (CHCl₃, *c* 0.25); *R_f* = 0.31 (2:3 EtOAc/PE).

IR (film): 1751(C=O, lakton), 1724 (C=O, estar), 1601 i 1586 (C–C, aromat) i 1178 (OC=O, estar).

¹H NMR Spektar (CDCl₃): 2.00 (s, 3 H, COCH₃), 3.87 (s, 3 H, OCH₃), 4.60 (dd, 1 H, $J_{6,7a} = 4.0$ Hz, $J_{7a,7b} = 12.5$ Hz, H-7a), 4.96 (dd, 1 H, $J_{5,6} = 9.7$ Hz, $J_{4,5} = 2.7$ Hz, H-5), 5.00 (dd, 1 H, $J_{6,7b} = 2.4$ Hz, $J_{7a,7b} = 12.6$ Hz, H-7b), 5.60 (ddd, 1 H, $J_{6,7b} = 2.5$ Hz, $J_{6,7a} = 4.0$ Hz, $J_{5,6} = 9.7$ Hz, H-6), 5.66 (dd, 1 H, $J_{4,5} = 2.7$ Hz, $J_{3,4} = 6.0$ Hz, H-4), 6.35 (d, 1 H, $J_{2,3} = 9.7$ Hz, H-2), 7.15 (ddd, 1 H, $J = 1.0$ Hz, $J = 2.7$ Hz, $J = 8.3$ Hz, H-4'), 7.18 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 6.0$ Hz, $J_{2,3} = 9.7$ Hz, H-3), 7.38 (t, 1 H, $J = 8.0$ Hz, H-5'), 7.46 (t, 2 H, H-3'', H-5'' iz Bz), 7.51 (dd, 1 H, $J = 1.5$ Hz, $J = 2.6$ Hz, H-2'), 7.57-7.63 (m, 2 H, H-6', H-4'' iz Bz), 8.04 (m, 2 H, H-2'', H-6'' iz Bz).

¹³C NMR Spektar (CDCl₃): 20.52 (COCH₃), 55.43 (OCH₃), 60.63 (C-4), 61.79 (C-7), 67.93 (C-6), 75.47 (C-5), 114.32 (C-2'), 120.28 (C-4'), 122.25 (C-6'), 125.40 (C-2), 128.44 (C-3'', C-5'' iz Bz), 129.52 (C-1'' iz Bz), 129.64 (C-2'', C-6'' iz Bz), 129.67 (C-5'), 133.25 (C-4'' iz Bz), 139.93 (C-3), 159.60 (C-3'), 161.13 (C-1), 165.24 (C=O iz CPhOCH₃), 165.93 (C=O iz Bz), 169.10 (C=O iz Ac).

HRMS: Izračunato za C₂₄H₂₂O₉Na: 477.1156. Nađeno: 477.1160 (M⁺+Na).

4.12 4-O-Acetil-7-O-benzoil-2,3-dideoksi-D-arabino-hept-2-en-1,5-lakton (13)

Rastvoru jedinjenja **9** (0.152 g, 0.37 mmol) i TsCl (0.212 g, 1.11 mmol) u anh. CH₂Cl₂ (15 mL) se uz mešanje doda FeCl₃ (0.018 g, 0.105 mmol). Nakon 24 h dodate su još tri identične porcije FeCl₃ (0.018g, 0.105 mmol) sa međusobnim razmakom od 24 h. Nakon ukupnih 168 h, reakcioni rastvor se upari, a dobijeni ostatak prečisti fleš hromatografijom (3:7 EtOAc/PE) pri čemu se dobija čisto **13** (0.058 g, 49%) u vidu staklaste mase koja kristalizacijom iz CH₂Cl₂/n-heksan daje tt 124 – 127 °C, $[\alpha]_D = -207.6$ (CHCl₃, c 0.25); $R_f = 0.16$ (3:7 EtOAc/PE).

IR (film): ν_{\max} 3445 (OH), 1733 (C=O estar) i 1601 (C–C, aromat).

¹H NMR Spektar (CDCl₃): 2.15 (s, 3 H, Ac), 3.29 (d, 1 H, $J_{6,OH} = 5.0$ Hz, OH), 4.27 (dtd, 1 H, $J_{6,7b} = 2.3$ Hz, $J_{6,7a} = 5.0$ Hz, $J_{5,6} = 9.8$ Hz, $J_{6,OH} = 5.0$ Hz, H-6), 4.51 (dd, 1 H, $J_{4,5} = 2.4$ Hz, $J_{5,6} = 9.6$ Hz, H-5), 4.61 (dd, 1 H, $J_{6,7a} = 5.0$ Hz, $J_{7a,7b} = 12.2$ Hz, H-7a), 4.88 (dd, 1 H, $J_{6,7b} = 2.2$ Hz, $J_{7a,7b} = 12.2$ Hz, H-7b), 5.50 (dd, 1 H, $J_{4,5} = 2.4$ Hz, $J_{3,4} = 6.1$ Hz, H-4), 6.27 (d, 1 H, $J_{2,3} = 9.6$ Hz, H-2), 7.12 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 6.1$ Hz, $J_{2,3} = 9.6$ Hz, H-3), 7.46-7.51 (m, 2 H, H-3', H-5'), 7.59–7.64 (m, 1 H, H-4'), 8.06–8.10 (m, 2 H, H-2', H-6').

^{13}C NMR Spektar (CDCl_3) 20.63 (COCH_3), 61.03 (C-4), 65.83 (C-7), 67.69 (C-6), 77.31 (C-5), 125.20 (C-2), 128.55, 129.30, 129.83, 129.87, 133.59 (Ar-C), 140.53 (C-3), 161.74 (C-1), 167.68 (C=O, Bz), 170.32 (C=O, Ac).

HRMS: Izračunato za $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{O}_7\text{Na}$: 343.0788. Nađeno: 343.0781 ($\text{M}^+\text{+Na}$).

4.13 6-*O*-Acetil-4-*O*-cinamoil-7-*O*-benzoil-2,3-dideoksi-*D*-arabino-hept-2-en-1,5-lakton (14)

Rastvoru kristalnog jedinjenja **10** (0.05 g, 0.16 mmol) u anh. CH_2Cl_2 (5 mL) koji se meša na sobnoj temperaturi, sukcesivno se dodaju *trans*-cimetna kiselina (0.044 g, 0.3 mmol), DCC (0.068 g, 0.33 mmol) i DMAP (0.038 g, 0.31 mmol). Nakon 4 h, reakcioni rastvor se izlije u 10% rastvor NaCl (60 mL) i ekstrahuje sa CH_2Cl_2 (3×15 mL). Organske faze se spoje, suše i upare do suva, a dobijeni ostatak prečisti fleš hromatografijom (3:7 EtOAc/PE) pri čemu se dobija čisti proizvod **14** (0.058 g, 82%) u vidu bele čvrste mase. Rekristalizacijom iz CH_2Cl_2 /n-heksan dobijaju se beli vunasti prah tt (fazni prelaz 145 °C) oštro 151 °C, $[\alpha]_D = -375$ (c 0.5, CHCl_3); $R_f = 0.31$ (EtOAc/PE 3:7).

IR (KBr): ν_{max} 1747, 1736 i 1708 (3×C=O), 1632 (OC=O, estar) i 1602 i 1572 (C–C, aromat).

IR (film): ν_{max} 1752 i 1727 (2×C=O), 1636 (OC=O, estar), 1603 i 1579 (C–C, aromat).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): 2.03 (3 H, COCH_3), 4.54 (dd, 1 H, $J_{6,7a}=4.2$ Hz, $J_{7a,7b}=12.5$ Hz, H-7a), 4.89 (dd, 1 H, $J_{5,6}=9.6$ Hz, $J_{4,5}=2.7$ Hz, H-5), 4.97 (dd, 1 H, $J_{6,7b}=2.4$ Hz, $J_{7a,7b}=12.5$ Hz, H-7b), 5.44–5.57 (m, 2 H, H-4 i H-6), 6.31 (d, 1 H, $J_{2,3}=9.7$ Hz, H-2), 6.41 (d, 1 H, $J_{2',3'}=16.0$ Hz, H-2'), 7.09 (dd, 1 H, $J_{2,3}=9.7$ Hz, $J_{3,4}=6.1$ Hz, H-3), 7.34–7.59 (m, 8 H, Ph), 7.70 (d, 1 H, $J_{2',3'}=16.0$ Hz, H-3'), 8.02 (dd, 1H, 2H, o-H iz Bz).

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): 20.94 (COCH_3), 60.04 (C-4), 62.23 (C-7), 68.23 (C-6), 75.86 (C-5), 116.17 (C-2'), 125.57 (C-2), 128.72, 128.77, 129.24, 129.88, 129.98, 131.20, 133.56, 134.09 (Ph), 140.39 (C-3), 147.38 (C-3'), 161.52 (C-1), 165.86 (CO iz cinamata), 166.28 (COPh), 169.56 (COCH_3).

Elementarna mikroanaliza: Izračunato za $\text{C}_{25}\text{H}_{22}\text{O}_8$: C, 66.66; H, 4.92, nađeno: C, 66.30; H, 4.71.

HRMS: Izračunato za $\text{C}_{25}\text{H}_{22}\text{O}_8\text{Na}$: 473.1212. Nađeno: m/e 473.1211 ($\text{M}^+\text{+Na}$).

4.14 6-*O*-Acetil-4-*O*-(4-fluorocinamoil)-7-*O*-benzoil-2,3-dideoksi-*D*-arabino-hept-2-en-1,5-lakton (15)

Rastvoru kristalnog jedinjenja **10** (0.101 g, 0.315 mmol) u anh. CH_2Cl_2 (10 mL) koji se meša na

sobnoj temperaturi, sukcesivno se dodaju *trans*-4-fluorocimetna kiselina (0.099 g, 0.598 mmol), DCC (0.136 g, 0.661 mmol) i DMAP (0.076 g, 0.63 mmol). Nakon 4 h, reakcioni rastvor se izlije u 10% rastvor NaCl (60 mL) i ekstrahuje sa CH₂Cl₂ (3×15 mL). Organske faze se spoje, suše i upare do suva, a dobijeni ostatak tri puta prečisti fleš hromatografijom, prvo sa (3:7 EtOAc/PE), potom (2:3 EtOAc/PE) i (CH₂Cl₂/Me₂CO 199:1) pri čemu se dobija čisti proizvod **15** (0.109 g, 73.64%) u vidu bele čvrste mase. Rekrystalizacijom iz CH₂Cl₂/n-heksan dobija se beo prah tt 158 – 159 °C, $[\alpha]_D = -329.6$ (c 0.5, CHCl₃); $R_f = 0.37$ (2:3 EtOAc/PE).

IR (film): ν_{max} 3073 i 3022 (C-H, arom), 1751 (C=O, lakton), 1722 (C=O ester), 1601 (C–C, arom).

¹H NMR Spektar (CDCl₃): 2.05 (s, 3H, OCOCH₃), 4.57 (dd, 1H, $J_{7a,7b}=12.5$ Hz, $J_{6,7a}=4.4$ Hz, H-7a), 4.90 (dd, 1H, $J_{5,6}=9.6$ Hz, $J_{6,7b}=2.7$ Hz, H-5), 4.99 (dd, 1H, $J_{7a,7b}=12.5$ Hz, $J_{6,7b}=2.5$ Hz, H-7b), 5.53–5.58 (m, 2H, H-4 i H-6), 6.33 (d, 1H, $J_{2,3}=9.7$ Hz, H-2), 6.35 (d, 1H, $J_{2',3'}=16.1$ Hz, H-2'), 7.06–7.14 (m, 3H, H-3, H-6' i H-8'), 7.43–7.62 (m, 5H, Ar-H), 7.62 (d, 1H, $J_{2',3'}=16.0$ Hz, H-3'), 8.04 (dd, 2H, $J=8.4$ Hz, $J=1.4$ Hz, H-3'' i H-7'').

¹³C NMR Spektar (CDCl₃): 20.67 (CH₃CO), 60.09 (C-4), 61.96 (C-7), 67.94 (C-6), 75.60 (C-5), 115.66 i 115.68 (C-2', $J_{2',F}=2.2$ Hz), 116.06 i 116.28 (C-6' i C-8', $J_{6',F}=22.1$ Hz), 125.34 (C-2), 128.50, 129.59, 129.70, 130.09, 130.13, 130.37, 130.45, 133.30 (Ar-C'), 140.05 (C-3), 145.72 (C-3'), 161.21 (C-1, C=O), 163.01 i 165.52 (Cq-7', $J_{7',F}=252.6$ Hz), 165.45 (C-1', COOPhF-p), 166.00 (C-1'', COOBz), 169.33 (CH₃CO).

HRMS: Izračunato za C₂₅H₂₁FO₈Na: 491.1118. Nađeno: 491.1107 (M⁺+Na).

4.15 6-O-Acetil-4-O-(4-metoksicinamoil)-7-O-benzoil-2,3-dideoksi-D-arabino-hept-2-en-1,5-lakton (**16**)

Rastvoru kristalnog jedinjenja **10** (0.095 g, 0.297 mmol) u anh. CH₂Cl₂ (9.5 mL) koji se meša na sobnoj temperaturi, sukcesivno se dodaju *trans*-4-metoksicimetna kiselina (0.1 g, 0.564 mmol), DCC (0.129 g, 0.624 mmol) i DMAP (0.072 g, 0.594 mmol). Nakon 4 h, reakcioni rastvor se izlije u 10% rastvor NaCl (60 mL) i ekstrahuje sa CH₂Cl₂ (3×15 mL). Organske faze se spoje, suše i upare do suva, a dobijeni ostatak dva puta prečisti fleš hromatografijom, prvo sa (2:3 EtOAc/PE) i potom sa (CH₂Cl₂/Me₂CO 99:1) pri čemu se dobija čisti proizvod **16** (0.124 g, 87%) u vidu bele čvrste mase. Kristalizacijom iz Et₂O/n-heksan dobijaju se beli vunasti prah tt 136 – 137 °C, $[\alpha]_D = -328.6$ (c 0.5, CHCl₃); $R_f = 0.37$ (2:3 EtOAc/PE).

IR (film): ν_{max} 1751 (C=O, lakton), 1722 (C=O ester), 1603 (C–C, arom) i 1178 (OC=O, ester).

¹H NMR Spektar (CDCl₃): 2.05 (s, 3H, OCOCH₃), 3.86 (s, 3H, OCH₃-p), 4.58 (dd, 1H, $J_{7a,7b}=12.5$ Hz, $J_{7a,6}=4.1$ Hz, H-7a), 4.90 (dd, 1H, $J_{5,6}=9.5$ Hz, $J_{4,5}=2.6$ Hz, H-5), 4.99 (dd, 1H, $J_{7a,7b}=12.5$ Hz, $J_{6,7b}=2.4$ Hz, H-7b), 5.52-5.58 (m, 2H, H-4 i H-6), 6.29 (d, 1H, $J_{2',3'}=15.9$ Hz, H-2'), 6.32 (d, 1H, $J_{2,3}=9.7$ Hz, H-2), 6.92 (d, 2H, $J_{6',5'}=8.8$ Hz, H-6' i H-8'), 7.12 (dd, 1H, $J_{2,3}=9.7$ Hz, $J_{3,4}=6.1$ Hz, H-3), 7.44-7.51 (m, 4H, H-5', H-9', H-4'' i H-6''), 7.59 (tt, 1H, $J=7.4$ Hz, $J=1.3$ Hz, H-5''), 7.68 (d, 1H, $J=16.0$ Hz, H-3'), 8.04 (dd, 2H, $J=8.4$ Hz, $J=1.4$ Hz, H-7'' i H-3'').

¹³C NMR Spektar (CDCl₃): 20.66 (CH₃CO), 55.42 (OCH₃-p), 59.87 (C-4), 61.94 (C-7), 67.99 (C-6), 75.62 (C-5), 113.19 (C-2'), 114.40 (C-6' i C-8'), 125.18 (C-2), 126.60 (Cq-4'), 128.49 (C-4'' i C-6''), 129.63 (C-2''), 129.71 (C-7'' i C-3''), 130.23 (C-5' i C-9'), 133.27 (C-5''), 140.32 (C-3), 146.80 (C-3'), 161.32 (C-1, C=O), 161.91 (C-7'), 165.90 (C-1', COOPhOCH₃-p), 165.90 (C-1'', COOBz), 169.29 (CH₃CO).

HRMS: Izračunato za C₂₆H₂₄O₉Na: 503.1318. Nađeno: 503.1305 (M⁺+Na).

4.16 6-O-Acetil-4-O-(4-nitrocinaoil)-7-O-benzoil-2,3-dideoksi-D-arabino-hept-2-en-1,5-lakton (17)

Rastvoru kristalnog jedinjenja **10** (0.100g, 0.312 mmol) u anh. CH₂Cl₂ (10 mL) koji se meša na sobnoj temperaturi, sukcesivno se dodaju *trans*-4-nitrocimetna kiselina (0.114 g, 0.592 mmol), DCC (0.135 g, 0.655 mmol) i DMAP (0.076 g, 0.624 mmol). Nakon 4 h, reakcioni rastvor se izlije u 10% rastvor NaCl (60 mL) i ekstrahuje sa CH₂Cl₂ (3×15 mL). Organske faze se spoje, suše i upare do suva, a dobijeni ostatak prečisti dva puta fleš hromatografijom, prvo sa (2:3 EtOAc/PE) i potom sa (CH₂Cl₂/Me₂O 199:1) pri čemu se dobija čisti proizvod **17** (0.096 g, 62%) u vidu bezbojne staklaste mase. Kristalizacijom iz CH₂Cl₂/n-heksan dobijaju se beli komadići t_m 185 – 186 °C, $[\alpha]_D = -278.4$ (c 0.5, CHCl₃); $R_f = 0.42$ (2:3 EtOAc/PE).

IR (film): ν_{\max} 3325 i 3076 (C-H, aromat), 1749 (C=O, lakton), 1721 (C=O, estar), 1600 (C-C, aromat).

¹H NMR Spektar (CDCl₃): 2.06 (s, 3H, OCOCH₃), 4.57 (dd, 1H, $J_{7a,7b}=12.5$ Hz, $J_{6,7a}=4.4$ Hz, H-7a), 4.91 (dd, 1H, $J_{5,6}=9.5$ Hz, $J_{6,7b}=2.5$ Hz, H-5), 4.99 (dd, 1H, $J_{7a,7b}=12.5$ Hz, $J_{6,7b}=2.4$ Hz, H-7b), 5.59-5.51 (m, 2H, H-4 i H-6), 6.35 (d, 1H, $J_{2,3}=9.7$ Hz, H-2), 6.55 (d, 1H, $J_{2',3'}=16.0$ Hz, H-2'), 7.12 (dd, 1H, $J_{2,3}=9.7$ Hz, $J_{3,4}=6.1$ Hz, H-3), 7.46 (t, 2H, $J=7.8$ Hz, $J=7.4$ Hz, H-4'' i H-6''), 7.59 (t, 1H, $J=7.4$ Hz, H-5''), 7.71 (d, 2H, $J=8.9$ Hz, H-5', H-9'), 7.75 (d, 1H, $J_{2',3'}=16.0$ Hz, H-3'), 8.03 (d, 2H, $J=7.2$ Hz, H-3'' i H-7''), 8.27 (d, $J=8.8$ Hz, H-6' i H-8').

^{13}C NMR Spektar (CDCl_3): 20.69 (CH_3CO), 60.52 (C-4), 61.96 (C-7), 67.87 (C-6), 75.58 (C-5), 120.31 (C-2'), 124.21 (C-6' i C-8'), 125.63 (C-2), 128.62 (C-4'' i C-6''), 129.12 (C-5' i C-9'), 129.53 (Cq-2''), 129.69 (C-3'' i C-7''), 133.35 (C-5''), 139.62 (C-3), 139.82 (Cq4'), 143.90 (C-3'), 148.82 (Cq-7'), 161.03 (C-1, C=O), 164.69 (C-1', COOPhNO₂-p), 165.99 (C-1'', COOBz), 169.41 (CH_3CO).

HRMS: Izračunato za $\text{C}_{25}\text{H}_{21}\text{NO}_{10}\text{Na}$: 518.1063. Nađeno: 518.1065 (M^+Na).

4.17 6-O-Acetil-4-O-(3,4-dimetoksicinamoil)-7-O-benzoil-2,3-dideoksi-D-arabino-hept-2-en-1,5-lakton (18)

Rastvoru kristalnog jedinjenja **10** (0.05 g, 0.16 mmol) u anh. CH_2Cl_2 (5 mL) koji se meša na sobnoj temperaturi, sukcesivno se dodaju 3,4-dimetoksicimetna kiselina (0.064 g, 0.304 mmol), DCC (0.336 mmol, 0.070 g) i DMAP (0.040 g, 0.32 mmol). Nakon 24 h reakioni rastvor se izlije u 10% NaCl i ekstrahuje sa CH_2Cl_2 ($3 \times 10\text{ml}$), organske faze se spoje, suše i upare. Dobijeni ostatak se rastvori u CH_2Cl_2 , upari sa silikagelom i prečisti fleš hromatigrafijom (7:3 PE/Me₂CO) pri čemu se dobija čisto **18** (0.060 g, 75%). Kristalizacijom iz CH_2Cl_2 /n-heksan dobijaju se beli kristali $t_{\text{m}} 156 - 158\text{ }^\circ\text{C}$, $[\alpha]_{\text{D}} = -330.8$ (c 0.25, CHCl_3); $R_f = 0.29$ (3:7 Ac/PE).

IR (film): ν_{max} 3069 i 3020 (C-H, aromat), 1751 (C=O, lakton), 1723 (C=O estar), 1599 (C-C, aromat).

^1H NMR Spektar (CDCl_3): 2.06 (s, 3 H, COCH_3), 3.94 i 3.95 (2 x s, 6 H, 2 x OCH_3), 4.58 (dd, 1 H, $J_{6,7a} = 4.2\text{ Hz}$; $J_{7a,7b} = 12.5\text{ Hz}$, H-7a), 4.90 (dd, 1 H) ($J_{4,5} = 2.7\text{ Hz}$; $J_{5,6} = 9.5\text{ Hz}$, H-5), 5.00 (dd, 1 H, $J_{6,7b} = 2.4\text{ Hz}$, $J_{7a,7b} = 12.5\text{ Hz}$, H-7b), 5.53-5.58 (m, 2 H, H-6, H-4), 6.29 (d, 1 H, $J_{2,3'} = 15.9\text{ Hz}$, H-2'), 6.33 (d, 1 H, $J_{2,3} = 9.7\text{ Hz}$, H-2), 6.89 (d, 1 H, $J = 8.3\text{ Hz}$, H-5''), 7.07 (d, 1 H, $J = 1.9\text{ Hz}$, H-2''), 7.12 (dd, 1 H, $J_{2,3} = 9.7\text{ Hz}$, $J_{3,4} = 6.1\text{ Hz}$, H-3), 7.14 (dd, 1 H, $J = 1.9\text{ Hz}$, $J = 8.3\text{ Hz}$, H-6''), 7.46 (t, 2 H, $J = 7.9\text{ Hz}$, $J = 7.5\text{ Hz}$, H-3''', H-5''' iz Bz), 7.59 (tt, 1 H, $J = 1.3\text{ Hz}$, $J = 7.4\text{ Hz}$, H-4''' iz Bz), 7.66 (d, 1 H, $J_{2,3'} = 15.9\text{ Hz}$, H-3'), 8.04 (dd, 2 H, $J = 1.3\text{ Hz}$, $J = 8.2\text{ Hz}$, H-2''', H-6''' iz Bz).

^{13}C NMR Spektar (CDCl_3): 20.58 (COCH_3), 55.84 (OCH_3), 55.91 (OCH_3), 59.77 (C-4), 61.86 (C-7), 67.89 (C-6), 75.56 (C-5), 109.67 (C-2''), 110.90 (C-5''), 113.32 (C-2'), 123.23 (C-6''), 125.11 (C-2), 126.74 (C-1''), 128.40, 129.52, 129.60, 133.20 (Ar-C iz Bz), 140.22 (C-3), 146.93 (C-3'), 149.16 i 151.57 (C-3'', C-4''), 161.22 (C-1), 165.68 (C-1'), 165.91 (C=O, Bz), 169.24 (C=O, Ac).

HRMS: Izračunato za $\text{C}_{27}\text{H}_{26}\text{O}_{10}\text{Na}$: 533.1418. Nađeno: 533.1411 (M^+Na).

4.18 6-*O*-Acetil-4-*O*-metansulfonil-7-*O*-benzoil-2,3-dideoksi-*D*-arabino-hept-2-en-1,5-lakton (**19**)

Rastvoru kristalnog jedinjenja **10** (0.05 g, 0.16 mmol) u anh. CH₂Cl₂ (5 mL) koji se meša na sobnoj temperaturi, sukcesivno se dodaju metansulfonil hlorid (0,3 mL, 0.416 mmol) i DMAP (0.029 g, 0.24 mmol). Nakon 1 h, reakcioni rastvor se izlije u 10% rastvor NaCl (60 mL) i ekstrahuje sa CH₂Cl₂ (3×15 mL). Organske faze se spoje, suše i upare do suva, a dobijeni ostatak prečisti fleš hromatografijom (4:6 EtOAc/PE), pri čemu se dobija čisti proizvod **19** (0.54 g, 87%) u vidu bele čvrste mase. Rekrystalizacijom iz CH₂Cl₂/n-heksan dobija se beli prah (mikroskop, smesa igličasti i komadići) *t*_m 169 – 170 °C, [α]_D = – 240 (c 0.25, CHCl₃); R_f = 0.25 (4:6 EtOAc/PE).

IR (film): ν_{max} 1746 (C=O, lakton), 1726 (C=O, estar), 1630 (C–C, aromat) i 1175 (OC=O, estar).

¹H NMR Spektar (CDCl₃): 2.13 (s, 3H, Ac-CH₃), 3.12 (s, 3H, Ms-CH₃), 4.53 (dd, 1H, *J*_{7a,6}=3.8 Hz, *J*_{7a,7b}=12.6 Hz, H-7a), 4.88 (dd, 1H, *J*_{4,5}=2.6 Hz, *J*_{5,6}=9.8 Hz, H-5), 4.98 (dd, 1H, *J*_{6,7b}= 2.4 Hz, *J*_{7a,7b}=12.6 Hz, H-7b), 5.31, (dd, 1H, *J*_{4,5}=2.6 Hz, *J*_{3,4}=6.0 Hz, H-4), 5.50 (ddd, 1H, *J*_{6,7b}=2.4 Hz, *J*_{6,7a}=3.8 Hz, *J*_{5,6}=9.8 Hz H-6), 6.39 (d, 1H, *J*_{2,3}=9.7Hz, H-2), 7.12 (dd, 1H, *J*_{3,4}= 6.0 Hz, *J*_{2,3}=9.7 Hz, H-3), 7.47 (t, 2H, Ph iz Bz), 7.61, (tt, 1H, Ph iz Bz), 8.04 (m, 2H, Ph iz Bz).

¹³C NMR Spektar (CDCl₃): 20.88 (Me iz Ac), 38.42 (Me iz Ms), 61.60 (C-7), 63.29 (C-4), 67.46 (C-6), 75.10 (C-5), 126.17 (C-2), 128.53, 129.53, 129.70, 133.37 (Bz), 139.05, (C-3), 160.29, (C-1), 165.95, (COPh), 169.82, (COCH₃).

HRMS: Izračunato za C₁₇H₁₈O₉SK: 437.0303. Nađeno: 437.0305 (M⁺+K).

4.19 6-*O*-Acetil-4-*O*-(*p*-toluensulfonil)-7-*O*-benzoil-2,3-dideoksi-*D*-arabino-hept-2-en-1,5-lakton (**20**)

Rastvoru kristalnog jedinjenja **10** (0.1 g, 0.312 mmol) u anh. CH₂Cl₂ (10 mL) koji se meša na sobnoj temperaturi, sukcesivno se dodaju *p*-toluensulfonil hlorid (0.077 g, 0.4056 mmol) i DMAP (0.056 g, 0.468 mmol). Nakon 1 h, reakcioni rastvor se izlije u 10% rastvor NaCl (60 mL) i ekstrahuje sa CH₂Cl₂ (3×15 mL). Organske faze se spoje, suše i upare do suva, a dobijeni ostatak prečisti fleš hromatografijom (7:13 EtOAc/PE) pri čemu se dobija čisti proizvod **20** (0.120 g, 81%) u vidu bele čvrste mase. Rekrystalizacijom iz CH₂Cl₂/n-heksan dobija se beo prah *t*_m 150 – 152 °C, [α]_D = – 240 (c 0.25, CHCl₃); R_f = 0.39 (7:13 EtOAc/PE).

IR (film): ν_{max} 3027 (C-H, aromat), 1752 (C=O, lakton) i 1726 (C=O estar), 1632 i 1598 (C–C, aromat) i 1177 (OC=O, estar).

¹H NMR Spektar (CDCl₃): 2.13 (s, 3 H, Ac-CH₃), 2.47 (s, 3 H, Ts-CH₃), 4.49 (dd, 1 H, $J_{6,7a} = 3.2$ Hz, $J_{7a,7b} = 12.6$ Hz, H-7a), 4.87 (dd, 1 H, $J_{4,5} = 2.5$ Hz, $J_{5,6} = 9.7$ Hz, H-5), 4.99 (dd, 1 H, $J_{6,7b} = 2.3$ Hz, $J_{7a,7b} = 12.6$ Hz, H-7b), 5.32 (dd, 1 H, $J_{4,5} = 2.5$ Hz, $J_{3,4} = 5.9$ Hz, H-4), 5.35 (dt, $J_{5,6} = 9.7$ Hz, $J_{6,7a} = 2.9$ Hz, $J_{6,7b} = 2.7$ Hz, H-6), 6.31 (d, 1 H, $J_{2,3} = 9.7$ Hz, H-2), 7.04 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 6.0$ Hz, $J_{2,3} = 9.7$ Hz, H-3), 7.38 (d, 2 H, $J = 8.3$ Hz, H-3', H-5' iz Ts), 7.47 (t, 2 H, $J = 7.8$ Hz, $J = 7.5$ Hz, H-3'', H-5'' iz Bz), 7.60 (t, 1 H, $J = 7.5$ Hz, $J = 8.4$ Hz, H-4'' iz Bz), 7.79 (d, 2 H, $J = 8.3$ Hz, H-2', H-6' iz Ts), 8.03 (dd, 2 H, $J = 1.4$ Hz, $J = 7.5$ Hz, H-2'', H-6'' iz Bz),

¹³C NMR Spektar (CDCl₃): 20.88 (Ac-CH₃), 21.75 (Ts-CH₃), 61.22 (C-7), 64.50 (C-4), 67.84 (C-6), 75.18 (C-5), 125.88 (C-2), 128.10 (C-2', C-6' iz Ts), 128.50 (C-3'', C-5'' iz Bz), 129.60 (C-1'' iz Bz), 129.69 (C-2'', C-6'' iz Bz), 130.09 (C-3', C-5' iz Ts), 132.24 (C-1' iz Ts), 133.31 (C-4'' iz Bz), 139.44 (C-3), 145.95 (C-4' iz Ts), 160.44 (C-1), 165.94 (C=O, Bz), 169.53 (C=O, Ac).

HRMS: Izračunato za C₂₃H₂₂O₉SNa: 497.08767. Nađeno: 497.09003 (M⁺+Na).

4.20 6-O-Acetil-4-O-(*terc*-butildimetilsilil)-7-O-benzoil-2,3-dideoksi-D-arabino-hept-2-en-1,5-lakton (21)

Rastvoru jedinjenja **10** (0.05g, 0.156 mmol) u smesi anh. CH₂Cl₂/anh. Py (1:1, 5 mL) koje se meša na sobnoj temperaturi, se doda TBSOTf (0.07 mL, 0.264 mmol). Nakon 20 h, reakcioni rastvor se upari do suva, a dobijeni ostatak se rastvori u minimalnoj količini CH₂Cl₂ i prečisti na koloni fleš silikagela (1:1 Et₂O/PE) pri čemu se dobija čisto **21** (0.059 g, 87%) u vidu staklaste bezbojne mase. Kristalizacijom iz smese CH₂Cl₂/n-heksan dobija se beo prah (mikroskop, komadići) *tt* 125 – 128 °C, $[\alpha]_D = -138.8$ (c 0.25, CHCl₃); $R_f = 0.39$ (Et₂O/PE 1:1).

IR (film): ν_{\max} 1757 (C=O, lakton), 1731 i 1711 (C=O estar), 1628 i 1603 (C–C, aromat) i 1177 (OC=O, estar).

¹H NMR Spektar (CDCl₃): 0.08 and 0.10 (2 x s, 2 x 3 H, CH₃SiCH₃), 0.88 (s, 9 H, 3 Me from ^tBu), 2.09 (s, 3 H, COCH₃), 4.34 (dd, 1 H, $J_{4,5} = 2.3$ Hz, $J_{3,4} = 5.8$ Hz, H-4), 4.58 (dd, 1 H, $J_{6,7a} = 3.8$ Hz, $J_{7a,7b} = 12.6$ Hz, H-7a), 4.63 (dd, 1 H, $J_{4,5} = 2.3$ Hz, $J_{5,6} = 8.6$ Hz, H-5), 5.08 (dd, 1 H, $J_{6,7b} = 2.2$ Hz, $J_{7a,7b} = 12.6$ Hz, H-7b), 5.43 (ddd, 1 H, $J_{6,7b} = 2.2$ Hz, $J_{6,7a} = 3.8$ Hz, $J_{5,6} = 8.6$ Hz, H-6), 6.18 (d, 1 H, $J_{2,3} = 9.7$ Hz, H-2), 6.98 (dd, 1 H) ($J_{3,4} = 5.8$ Hz, $J_{2,3} = 9.7$ Hz, H-3), 7.46 (t, 2 H, $J = 7.9$ Hz, $J = 7.4$ Hz, H-3', H-5'), 7.59 (ttt, 1 H, $J = 1.4$ Hz, $J = 7.4$ Hz, H-4'), 8.04 (dd, 2 H, $J = 1.4$ Hz, $J = 8.4$ Hz, H-2', H-6').

¹³C NMR Spektar (CDCl₃): -4.90 i -3.69 (CH₃SiCH₃), 17.90 [C(CH₃)₃], 21.02 (COCH₃), 25.57 [C(CH₃)₃], 60.06 (C-4), 61.62 (C-7), 69.26 (C-6), 77.81 (C-5), 123.15 (C-2), 128.45 (C-3', C-5' iz

Bz), 129.68 (C-1' iz Bz), 129.83 (C-2', C-6' iz Bz), 133.16 (C-4' iz Bz), 143.98 (C-3), 162.05 (C-1), 166.07 (C=O, Bz), 169.52(C=O, Ac).

HRMS: Izračunato za C₂₂H₃₀O₇SiK: 473.1392. Nađeno: 473.1388 (M⁺+K).

4.21 6-O-Acetil-4-O-(*tert*-butildidifenilsilil)-7-O-benzoil-2,3-dideoksi-D-arabino-hept-2-en-1,5-lakton (22)

Rastvoru kristalnog jedinjenja **10** (0.05 g, 0.16 mmol) u *N*-metilimidazolu (2 mL) i I₂ (0.064 g, 0.25 mmol) koji se meša na sobnoj temperaturi, doda se *tert*-butildifenilsilil hlorid (0.08 mL, 0.27 mmol). Nakon 2 h, reakcioni rastvor se razblaži sa CHCl₃, izlije u 2M HCl (60 mL) i ekstrahuje sa CHCl₃ (3×15 mL). Organska faza se neutrališe sa 2%-tnim rastvorom NaHCO₃ (50 mL), ispere sa 10% NaCl (40 mL), suši i upari do suva. Dobijeni ostatak se prečisti fleš hromatografijom, prvo sa (3:7 Et₂O/PE) i potom sa 199:1 (CHCl₃/Me₂CO), pri čemu se dobija čisti proizvod **22** (0.055 g, 63%) u vidu staklaste mase., [α]_D = -163.2 (c 0.25, CHCl₃); R_f = 0.33 (99:1 CHCl₃/Me₂CO) ili R_f = 0.39 (Et₂O/PE 1:1).

IR (film): ν_{max} 3071 i 3017 (C-H, aromat), 1748 (C=O, lakton) i 1728 (C=O estar), 1630 i 1601 (C-C, aromat) i 1177 (OC=O, estar).

¹H NMR Spektar (CDCl₃): 2.06 (s, 3H, OCOCH₃), 1.05, (s, 9H, 3xMe od *tert*-butil), 1.96, (s, 3H Me from Ac), 4.37, (dd, 1H, J_{4,5}=2.3 Hz, J_{3,4}=5.8 Hz, H-4), 4.58, (dd, 1H, J_{4,5}=2.3 Hz, J_{5,6}=8.9 Hz, H-5), 4.64, (dd, 1H, J_{6,7a}=3.5 Hz, J_{7a,7b}=12.6 Hz, H-7a), 5.62, (dd, 1H, J_{6,7b}=2.2 Hz, J_{7a,7b}=12.6 Hz, H-7b), 5.56, (ddd, 1H, J_{6,7b}=2.3 Hz, J_{6,7a}=3.4 Hz, J_{5,6}=8.9 Hz, H-6), 5.96, (d, 1H, J_{2,3}=9.7 Hz, H-2), 6.40, (dd, 1H, J_{3,4}=5.8 Hz, J_{2,3}=9.7 Hz, H-3), 7.36-8.05, (m, 15H, Ar-H).

¹³C NMR Spektar (CDCl₃): 19.26 [C(CH₃)₃], 20.90, (Me iz Ac), 26.71, [C(CH₃)₃], 60.97, (C-4), 61.49, (C-7), 69.19, (C-6), 77.75, (C-5), 123.11 (C-2), 127.73, 128.15, 128.45, 129.67, 129.79, 130.17, 130.43, 132.35, 133.10, 133.17, 135.70, 135.99, (Bz, 2 Ph iz TBDPS), 144.34, (C-3), 162.23, (C-1), 166.06, (COPh), 169.48, (OCOCH₃)

HRMS: Izračunato za C₃₂H₃₄O₇SiNa: 581.19660. Nađeno: 581.19928 (M⁺+Na).

4.22 6-O-Acetil-4-O-difenilacetil-7-O-benzoil-2,3-dideoksi-D-arabino-hept-2-en-1,5-lakton (23)

Rastvoru kristalnog jedinjenja **10** (0.05 g, 0.16 mmol) u anh. CH₂Cl₂ (5mL) koji se meša na sobnoj temperaturi, sukcesivno se dodaju difenilsirćetna kiselina (0.065 g, 0.304 mmol), DCC (0.069 g, 0.34 mmol) i DMAP (0.039 g, 0.32 mmol). Nakon 24h reakcioni rastvor se izlije u 10% NaCl (30

mL) i ekstrahuje sa CH_2Cl_2 (3×10 mL). Organske faze se spoje i suše i upare do suva, a dobijeni ostatak prečisti fleš hromatografijom (99:1 $\text{CHCl}_3/\text{Me}_2\text{CO}$), pri čemu se dobija čisto **23** (0.073 g, 91%). Krisalizacijom iz $\text{CH}_2\text{Cl}_2/n$ -heksan dobijaju se beli kristali t_f 170 °C, $[\alpha]_D = -216$ (c 0.25, CHCl_3); $R_f = 0.23$ (99:1 $\text{CHCl}_3/\text{Me}_2\text{CO}$).

IR (film): ν_{\max} 3064 i 3033 (C-H, aromat), 1755 (C=O, lakton), 1732 (C=O estar), 1601 (C–C, aromat) i 1177 (OC=O, estar).

^1H NMR Spektar (CDCl_3): 1.87 (s, 3 H, COCH_3), 4.52 (dd, 1 H, $J_{6,7a} = 4.0$ Hz, $J_{7a,7b} = 12.6$ Hz, H-7a), 4.86 (dd, 1 H, $J_{4,5} = 2.7$ Hz, $J_{5,6} = 9.4$ Hz, H-5), 4.93 (dd, 1 H, $J_{6,7b} = 2.4$ Hz, $J_{7a,7b} = 12.6$ Hz, H-7b), 5.07 (s, 1 H, H-2'), 5.38 (ddd, 1 H, $J_{6,7b} = 2.4$ Hz, $J_{6,7a} = 3.9$ Hz, $J_{5,6} = 9.4$ Hz, H-6), 5.43 (dd, 1 H, $J_{4,5} = 2.7$ Hz, $J_{3,4} = 6.0$ Hz, H-4), 6.26 (d, 1 H, $J_{2,3} = 9.7$ Hz, H-2), 7.08 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 6.0$ Hz, $J_{2,3} = 9.7$ Hz, H-3), 7.25-7.36 (m, 10 H, 2 Ph'), 7.47 (t, 2 H, $J = 7.90$ Hz, H-3'', H-5''), 7.60 (tt, 1 H, $J = 1.3$ Hz, $J = 7.4$ Hz, H-4''), 8.03 (dd, 2 H, $J = 1.4$ Hz, $J = 8.2$ Hz, H-2'', H-6'').

^{13}C NMR Spektar (CDCl_3): 20.47 (COCH_3), 56.36 (C-2'), 61.16 (C-4), 61.59 (C-7), 68.29 (C-6), 75.33 (C-5), 125.48 (C-2), 127.57, 127.64, 128.23, 128.50, 128.67, 128.71, 128.82, 129.62, 133.30, 137.59 (Ar-CH), 129.70 (Cq iz Bz), 137.61 (Cq iz Ph'), 139.45 (C-3), 160.97 (C-1), 165.95 (C=O, Bz), 169.19 (C=O, Ac), 171.69 (C-1').

HRMS: Izračunato za $\text{C}_{30}\text{H}_{26}\text{O}_8\text{Na}$: 553.1259. Nađeno: 553.1263 ($\text{M}^+ + \text{Na}$).

4.23 6-O-Acetil-4-hloro-7-O-benzoil-2,3,4-trideoksi-D-arabino-hept-2-en-1,5-lakton (24)

Rastvoru jedinjenja **10** (0.088g, 0.27 mmol) u anh. CH_2Cl_2 (8 mL) koji se meša na sobnoj temperaturi sukcesivno se dodaju 2,6-lutidin (0.1 mL, 0.81 mmol), Ph_3P (0.177 g, 0.675 mmol) i CCl_4 (0.1 mL, 0.891 mmol). Nakon 24 h, reakcioni rastvor se upari do suva, a dobijeni ostatak se prvo prečisti fleš hromatografijom (99:1 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Me}_2\text{CO}$) i potom preparativnim pločama (99:1 $\text{CHCl}_3/\text{Me}_2\text{CO}$) pri čemu se dobija **24** (0.023 g, 25%) u vidu belog praha. $[\alpha]_D = +95.2$ (c 0.25, CHCl_3); $R_f = 0.34$ (99:1 $\text{CHCl}_3/\text{Me}_2\text{CO}$).

IR (film): ν_{\max} 3070 (C-H, aromat), 1746 (C=O, estar), 1601 (C–C, aromat) i 1177 (OC=O, estar).

^1H NMR (400 MHz, $\text{CDCl}_3 + \text{C}_6\text{D}_6$ 1:1), δ (ppm)

1.84 (s, 3 H, COCH_3), 4.33 (dd, 1 H, $J_{6,7a} = 5.8$ Hz, $J_{7a,7b} = 12.3$ Hz, H-7a), 4.38 (ddd, 1 H, $J_{2,4} = 1.4$ Hz, $J_{3,4} = 3.7$ Hz, $J_{4,5} = 6.5$ Hz, H-4), 4.59 (dd, 1 H, $J_{6,7b} = 3.6$ Hz, $J_{7a,7b} = 12.3$ Hz, H-7b), 4.59 (dd, 1 H, $J_{4,5} = 6.5$ Hz, $J_{5,6} = 5.8$ Hz, H-5), 5.36 (td, 1 H, $J_{6,7b} = 3.8$ Hz, $J_{6,7a} = 5.8$ Hz; $J_{5,6} = 5.8$ Hz, H-6), 5.74 (dd, 1 H, $J_{2,4} = 1.4$ Hz, $J_{2,3} = 9.8$ Hz, H-2), 6.28 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 3.7$ Hz; $J_{2,3} = 9.8$ Hz; H-3),

7.21-7.26 (m, 3 H., H-3', H-5' iz Bz i Ph ostatak iz C₆D₆), 7.33 (ttt, 1 H, $J = 1.3$ Hz, $J = 7.5$ Hz, H-4' iz Bz), 8.00 (dd, 2 H, $J = 1.4$ Hz, $J = 8.5$ Hz, H-2', H-6' iz Bz).

¹³C NMR Spektar (CDCl₃): 20.36 (COCH₃), 47.60 (C-4), 61.91 (C-7), 69.67 (C-6), 80.40 (C-5), 121.18 (C-2), 128.40 (C-3', C-5' iz Bz), 129.39 (C-1' iz Bz), 129.62 (C-2', C-6' iz Bz), 133.19 (C-4' iz Bz), 143.19 (C-3), 159.67 (C-1), 165.72 (C=O, iz Bz), 169.33 (C=O, iz Ac).

HRMS: Izračunato za C₁₆H₁₅O₆ClNa: 361.0449. Nađeno: 361.0492 (M⁺+Na).

4.24 Metil (2'*Z*)-4,6,7-tri-*O*-benzil-2,3-dideoksi-*D*-arabino-hept-2-enoat (27)

Jedinjenje **2** (3 g, 11.53 mmol) se prelije sa 60% AcOH (45 mL) i meša na sobnoj temperaturi 24 h. Reakcioni rastvor se potom azeotropno uparava sa toluenom do potpunog uklanjanja kiseline i vode, a dobijeni ostatak se suši u visokom vakuumu preko noći. Rastvoru sirovog jedinjenja **2a** u anh. DMF (75 mL) koji se hladi i meša na 0 °C se doda NaH (1.66 g, 69.16 mmol) i nakon prestanka intenzivnog izdvajanja H₂, polako se doda BnBr (4.8 mL, 40.34 mmol) tokom 10 min. Nakon 0.5 h posuda za hlađenje se ukloni i mešanje nastavi dodatnih 2 h na sobnoj temperaturi. Reakcionom rastvoru se polako doda aps. MeOH (12 mL) i nakon prestanka intenzivnog izdvajanja H₂ upari do suva. Dobijeni ostatak se rastvori u smesi CH₂Cl₂/H₂O, izlije u H₂O (250 mL) i ekstrahuje sa CH₂Cl₂ (3×40 mL). Organske faze se spoje, isperu sa 10% NaCl (3×150 mL) potom suše i upare do suva. Ostatak sirovog jedinjenja **25** se prelije sa 50% aq. TFA (60 mL) i intenzivno meša na sobnoj temperaturi 18 h. Reakcioni rastvor se azeotropno uparava sa toluenom do potpunog uklanjanja kiseline i vode, a dobijeni ostatak se suši u visokom vakuumu preko noći. Sirovo jedinjenje **26** se uz mešanje rastvori u aps MeOH (500 mL), doda NaIO₄ (3.68 g, 17.29 mmol) i meša na sobnoj temperaturi tokom 2 h. Reakcioni rastvor se potom ohladi na 0 °C i doda se MCMP (7.5 g, 22.46 mmol). Posle 1 h posuda za hlađenje se ukloni i reakcija nastavi na sobnoj temperaturi 3 h pa se doda nova porcija MCMP (4.05 g, 12.12 mmol) i mešanje nastavi dodatnih 20 h. Reakcioni rastvor se upari do suva, a dobijeni ostatak rastvori u CH₂Cl₂ i upari sa silikagelom. Ostatak se dva puta prečisti fleš hromatografijom (1:1 PE/Et₂O) pri čemu se dobija čist proizvod **27** (4.1 g, 75%) u obliku bezbojnog sirupa; $R_f = 0.32$ (3:2 PE/Et₂O).

IR (film): ν_{\max} 3479 (OH), 1723 (C=O, lakton), 1658 (C=O, α,β -nezasićeni), 1604 i 1586 (C–C, aromat) i 1028 (=C–O–C, aromatični etar).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 2.1–2.5 (bs, 1 H, OH), 3.69 (s, 3 H, CO₂CH₃), 3.73 (m, 3 H, H-5, H-6 and H-7a), 3.87 (dd, 1 H, $J_{7a,7b} = 12.1$, $J_{6,7b} = 4.9$ Hz, H-7b), 4.34–4.75 (m, 6 H, 3 × PhCH₂),

5.42 (bd, $J_{3,4} = 9.0$ Hz, H-4), 6.02 (d, 1 H, $J_{2,3} = 11.8$ Hz, H-2), 7.41 (dd, 1 H, $J_{2,3} = 11.8$, $J_{3,4} = 9.1$ Hz, H-3), 7.24–7.39 (m, 15 H, 3 × Ph).

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ 51.4 (CO_2CH_3), 70.7 (C-7), 71.3, 72.4, 73.5 (3 × PhCH_2), 73.54 (C-4), 74.5 (C-5), 77.8 (C-6), 122.4 (C-2), 127.5, 127.6, 127.7, 127.8, 127.9, 128.1, 128.2, 128.35, 128.4, 138.0, 138.2, 138.5 (3 × Ph), 147.3 (C-3), 166.2 (CO_2CH_3).

HRMS: Izračunato za $\text{C}_{29}\text{H}_{32}\text{O}_6\text{K}$: 515.1830. Nađeno: 515.1822 (M^+K).

4.25 4,6,7-Tri-*O*-benzil-2,3-dideoksi-D-arabino-hept-2-en-1,5-lakton (28)

Rastvoru jedinjenja **27** (1.45 g, 3.04 mmol) u anh. CH_2Cl_2 (60 mL) se uz mešanje na sobnoj temperaturi doda *p*-TSA \times H $_2$ O (0.015 g, 0.08 mmol, 2.5 mol%). Nakon 96 h reakcioni rastvor se upari, a dobijeni ostatak se prečisti fleš hromatografijom (1:1 PE/Et $_2$ O) pri čemu se dobija čisti proizvod **28** (1.273 g, 94%) u obliku bezbojnog sirupa koji kristališe iz smese PE/Et $_2$ O u obliku belog praha (mikroskop-komadići) $t_{\text{t}} 64$ °C, $[\alpha]_{\text{D}} = -194.6$ (CHCl_3 , c 0.5); $R_{\text{f}} = 0.30$ (1:1 PE/Et $_2$ O).

IR (film): ν_{max} 1731 (C=O), 1629 (C=O, α,β -nezasićeni), 1605 i 1497 (C–C, aromat) i 1066 i 1028 (=C–O–C, aromatični etar).

^1H NMR (250 MHz, CDCl_3): δ 3.82 (dd, 1 H, $J_{6,7a} = 3.9$, $J_{7a,7b} = 10.8$ Hz, H-7a), 3.96 (dd, 1 H, $J_{7a,7b} = 10.8$, $J_{6,7a} = 2.0$ Hz, H-7b), 4.18 (ddd, 1 H, $J_{6,7b} = 2.0$, $J_{6,7a} = 4.0$, $J_{5,6} = 9.6$ Hz, H-6), 4.28 (dd, 1 H, $J_{4,5} = 2.5$, $J_{3,4} = 5.6$ Hz, H-4), 4.46–4.86 (m, 7 H, H-5 and 3 × CH_2Ph), 6.20 (d, 1 H, $J_{2,3} = 9.8$ Hz, H-2), 6.99 (dd, 1 H, $J_{2,3} = 9.8$, $J_{3,4} = 5.7$ Hz, H-3), 7.14–7.52 (m, 15 H, 3 × Ph).

^{13}C NMR (62.5 MHz, CDCl_3): δ 65.5 (C-4), 67.9 (C-7), 71.4, 72.4, 73.5 (3 × CH_2Ph), 75.4 (C-6), 77.9 (C-5), 124.3 (C-2), 127.7, 127.7, 127.8, 127.9, 128.0, 128.1, 128.4, 128.5, 137.7, 138.2, 138.25 (3 × Ph), 143.1 (C-3), 162.7 (C-1).

HRMS: Izračunato za $\text{C}_{28}\text{H}_{28}\text{O}_5\text{K}$: 483.1568. Nađeno: 483.1564 (M^+K).

4.26 4,7-Di-*O*-benzil-2,3-dideoksi-D-arabino-hept-2-en-1,5-lakton (29)

A) Rastvoru jedinjenja **28** (0.5 g, 1.12 mmol) u anh. CH_2Cl_2 (50 mL) koji se meša na sobnoj temperaturi se dodaju dve porcije FeCl_3 (0.047 g, 0.28 mmol) sa vremenskim razmakom od 4 h. Nakon 24 h od početka reakcije, ponovo se dodaju dve nove porcije FeCl_3 po prethodno pomenutoj proceduri i nakon 48 h se doda još jedna porcija FeCl_3 (0.047 g, 0.28 mmol). Posle 96 h od početka reakcije, reakcioni rastvor se upari na manju zapreminu (5 mL) i prečisti fleš hromatografijom (1:49

Me₂CO/CH₂Cl₂) pri čemu se dobija čisti proizvod **29** (0.167 g, 42%) u obliku bezbojne staklaste mase.

B) Rastvoru jedinjenja **28** (0.5 g, 1.12 mmol) u anh. CH₂Cl₂ (50 mL) i cc AcOH (0.96 mL, 16.8 mmol) koji se meša na sobnoj temperaturi se doda FeCl₃ (0.094 g, 0.56 mmol). Nakon 1 h dodaju se još dve porcije FeCl₃ (0.188 g, 1.12 mmol) sa međusobnim razmakom od 1 h i nakon 4 h od početka reakcije, reakcioni rastvor se izlije u 5% NaHCO₃ (150 mL) i ekstrahuje sa CH₂Cl₂ (3×30 mL). Organske faze se spoje, isperu sa 10% NaCl (80 mL), suše i upare do suva. Ostatak se prečisti fleš hromatografijom (1:49 Me₂CO/CH₂Cl₂) pri čemu se dobija čisti proizvod **29** (0.25 g, 63%) u obliku bezbojne staklaste mase koja kristališe iz sistema etar-petroletar u vidu prozirnih sjajnih ljuspica tt 82 °C, [α]_D = - 189.2 (CHCl₃, c 0.25); R_f = 0.3 (2:3 EtOAc/PE).

IR (film): ν_{max} 3449 (OH), 3031 (C–H, aromat), 1724 (C=O, α,β-nezasićen), 1629 i 1497 (C–C, aromat).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): 3.81 (dd, 1 H, J_{6,7a}=4.6 Hz, J_{7a,7b}=9.8 Hz, H-7a), 3.86 (dd, 1 H, J_{6,7b}=3.2 Hz, J_{7a,7b}=9.8 Hz, H-7b), 4.23 (dd, 1 H, J_{3,4}=5.8 Hz, J_{4,5}=2.6 Hz, H-4), 4.30 (ddd, 1 H, J_{6,7a}=4.5 Hz, J_{6,7b}=3.2 Hz, J_{5,6}=9.2 Hz, H-6), 4.36 (dd, J_{4,5}=2.5 Hz, J_{5,6}=9.3 Hz, H-5), 4.58 i 4.63 (2×d, 2 H, J_{gem}=11.8 Hz, CH₂Ph na C-4), 4.70 (s, 2 H, CH₂Ph, na C-7), 6.16 (d, 1 H, J_{2,3}=9.8 Hz, H-2), 6.91 (dd, 1 H, J_{2,3}=9.8 Hz, J_{3,4}=5.8 Hz, H-3), 7.30–7.42 (m, 10 H, Ph).

¹³C NMR Spektar (CDCl₃): 65.46 (C-4), 67.52 (C-6), 70.14 (C-7), 72.22 (CH₂Ph na C-7), 73.62 (CH₂Ph na C-4), 78.95 (C-5), 123.85 (C-2), 127.90, 128.00, 128.20, 128.55, 128.59, 137.67 (Ph), 142.89 (C-3), 162.72 (C-1).

Elementarna mikroanaliza: Izračunato za C₂₁H₂₂O₅: C, 71.17; H, 6.26. Nađeno: C, 71.09; H, 6.25.

LRMS (ESI+): m/z 355 (M+H).

4.27 6-O-Benzoil-4,7-di-O-benzil 2,3-dideoksi-D-arabino-hept-2-en-1,5-lakton (**30**)

Rastvoru jedinjenja **29** (0.13 g, 0.37 mmol), BzOH (0.09 g, 0.73 mmol) i DCC (0.189 g, 0.77 mmol) u anh. CH₂Cl₂ (15 mL) koji se meša na sobnoj temperaturi, se doda DMAP (0.09 g, 0.73 mmol). Nakon 24 h reakcioni rastvor se upari sa silikagelom, a dobijeni ostatak se prečisti fleš hromatografijom (1:3 EtOAc/PE) pri čemu se dobija čist proizvod **30** (0.13 g, 77%) u vidu bezbojne staklaste mase koja sušenjem očvrstne u belu masu. Rekrystalizacijom iz CH₂Cl₂/n-heksan dobijaju se beli kristali tt 113 °C, [α]_D = - 203.2 (CHCl₃, c 0.25); R_f = 0.47 (97:3 CH₂Cl₂/Me₂CO).

IR (film): ν_{\max} 3020 (C-H, aromatični), 1727 (C=O, α,β -nezasićen), 1453 (C-C, aromatični), 1071 i 1027 (=C-O-C, aromatični etar).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 4.01 (dd, 1 H, $J_{6,7a} = 2.2$, $J_{7a,7b} = 11.3$ Hz, H-7a), 4.08 (dd, 1 H, $J_{6,7b} = 3.5$, $J_{7a,7b} = 11.6$ Hz, H-7b), 4.10 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 5.5$, $J_{4,5} = 2.7$ Hz, H-4), 4.44 and 4.52 ($2 \times$ d, 1 H each, $J_{\text{gem}} = 11.7$ Hz, CH_2Ph at O-4), 4.58 (s, 2 H, CH_2Ph at O-7), 4.94 (dd, $J_{4,5} = 2.7$, $J_{5,6} = 8.9$ Hz, H-5), 5.71 (ddd, 1 H, $J_{6,7a} = 2.2$, $J_{6,7b} = 3.5$, $J_{5,6} = 8.9$ Hz, H-6), 6.23 (d, 1 H, $J_{2,3} = 9.8$ Hz, H-2), 6.98 (dd, 1 H, $J_{2,3} = 9.8$, $J_{3,4} = 5.6$ Hz, H-3), 7.16–8.08 (m, 15 H, $3 \times$ Ph).

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ 64.66 (C-4), 67.52 (C-7), 70.50 (C-6), 71.43 (CH_2Ph na O-4), 73.36 (CH_2Ph na O-7), 77.07 (C-5), 124.48 (C-2), 127.54, 127.64, 128.08, 128.19, 128.36, 128.49, 128.53, 129.76, 129.81, 133.38, 136.75, 138.00 ($3 \times$ Ph), 142.57 (C-3), 162.15 (C-1), 165.19 (PhC=O).

HRMS: Izračunato za $\text{C}_{28}\text{H}_{26}\text{O}_6\text{K}$: 497.1361. Nađeno: 497.1365 (M^+K).

4.28 4,7-Di-O-benzil-6-O-(trans-cinamoil)-2,3-dideoksi-D-arabino-hept-2-en-1,5-lakton (31)

Rastvoru jedinjenja **29** (0.09 g, 0.25 mmol) u anh. CH_2Cl_2 (9 mL) koji se meša na sobnoj temperaturi, sukcesivno se dodaju *trans*-cimetna kiselina (0.075 g, 0.51 mmol), DCC (0.11 g, 0.53 mmol) i DMAP (0.062 g, 0.51 mmol). Nakon 24 h, reakcioni rastvor se izlije u 10% rastvor NaCl (60 mL) i ekstrahuje sa CH_2Cl_2 (3×15 mL). Organske faze se spoje, suše i upare do suva, a dobijeni ostatak se dva puta prečisti fleš hromatografijom (1:4 EtOAc/PE) pri čemu se dobija čisti proizvod **31** (0.1 g, 81%) koji kristalizacijom iz CH_2Cl_2 /n-heksan daje beli prah $t_{\text{m}} 88$ °C, $[\alpha]_{\text{D}} = -172.4$ (CHCl_3 , c 1); $R_f = 0.35$ (3:7 EtOAc/PE).

IR (film): ν_{\max} 3030 (C-H, aromatični), 1728 (C=O), 1636 i 1578 (C-C, aromatični) i 1166 (OC=O, estar).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): 3.97 (dd, 1 H, $J_{6,7a} = 2.1$ Hz, $J_{7a,7b} = 11.3$ Hz, H-7a), 4.02 (dd, 1 H, $J_{6,7b} = 3.5$ Hz, $J_{7a,7b} = 11.3$ Hz, H-7b), 4.09 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 5.6$ Hz, $J_{4,5} = 2.7$ Hz, H-4), 4.51 i 4.57 ($2 \times$ d, 2 H, $J_{\text{gem}} = 11.7$ Hz, CH_2Ph na C-4), 4.59 (s, 2 H, CH_2Ph , na C-7), 4.86 (dd, $J_{4,5} = 2.6$ Hz, $J_{5,6} = 9.0$ Hz, H-5), 5.60 (m, 1 H, $J_{6,7a} = 2.4$ Hz, $J_{6,7b} = 3.2$ Hz, $J_{5,6} = 8.9$ Hz, H-6), 6.23 (d, 1 H, $J_{2,3} = 9.8$ Hz, H-2), 6.45 (d, $J_{2,3} = 16.0$ Hz, H-2'), 6.99 (dd, 1 H, $J_{2,3} = 9.8$ Hz, $J_{3,4} = 5.6$ Hz, H-3), 7.22–7.60 (m, 14 H, Ph), 7.74 (d, 1 H, $J_{2,3} = 16.0$ Hz, H-3').

^{13}C NMR Spektar (CDCl_3): 64.56 (C-4), 67.46 (C-7), 69.92 (C-6), 71.41 (CH_2Ph na C-4), 73.39 (CH_2Ph na C-7), 76.78 (C-5), 117.35 (C-2'), 124.38 (C-2), 127.58, 127.64, 128.14, 128.17, 128.34,

128.56, 129.95, 130.60, 134.08, 136.84, 137.87 (Ph), 142.50 (C-3), 145.75 (C-3'), 162.09 (C-1), 165.47 (C-1').

HRMS: Izračunato za $C_{30}H_{28}O_6Na$: 507.1784. Nađeno: 507.1778 ($M^+ + Na$).

4.29 4,7-Di-*O*-benzil-6-*O*-(*trans*-4-fluorocinamoil)-2,3-dideoksi-D-arabino-hept-2-en-1,5-lakton (32)

Rastvoru jedinjenja **29** (0.1 g, 0.28 mmol) u anh. CH_2Cl_2 (10 mL) koji se meša na sobnoj temperaturi, sukcesivno se dodaju *trans*-4-fluorocimetna kiselina (0.094 g, 0.56 mmol), DCC (0.122 g, 0.59 mmol) i DMAP (0.069 g, 0.56 mmol). Nakon 24 h, reakcioni rastvor se izlije u 10% rastvor NaCl (60 mL) i ekstrahuje sa CH_2Cl_2 (3×15 mL). Organske faze se spoje, suše i upare do suva, a dobijeni ostatak se dva puta prečisti fleš hromatografijom (1:4 EtOAc/PE) pri čemu se dobija čisti proizvod **32** (0.125 g, 88%), $[\alpha]_D = -164.4$ ($CHCl_3$, c 1); $R_f = 0.35$ (3:7 EtOAc/PE).

IR (film): ν_{max} 3031 (C–H, aromat), 1725 (C=O, α,β -nezasićeni), 1637 i 1509 (C–C, aromat) i 1233 i 1161 (C–O, estar).

1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): 3.97 (dd, 1 H, $J_{6,7a}=2.1$ Hz, $J_{7a,7b}=11.3$ Hz, H-7a), 4.02 (dd, 1 H, $J_{6,7b}=3.6$ Hz, $J_{7a,7b}=11.3$ Hz, H-7b), 4.08 (dd, 1 H, $J_{3,4}=5.6$ Hz, $J_{4,5}=2.7$ Hz, H-4), 4.51 i 4.58 (2×d, 2 H, $J_{gem}=11.9$ Hz, CH_2Ph na C-4), 4.59 (s, 2 H, CH_2Ph , na C-7), 4.85 (dd, $J_{4,5}=2.7$ Hz, $J_{5,6}=8.9$ Hz, H-5), 5.60 (m, 1 H, $J_{6,7a}=2.3$ Hz, $J_{6,7b}=3.3$ Hz, $J_{5,6}=9.2$ Hz, H-6), 6.23 (d, 1 H, $J_{2,3}=9.8$ Hz, H-2), 6.36 (d, $J_{2,3}=16.0$ Hz, H-2'), 6.99 (dd, 1 H, $J_{2,3}=9.8$ Hz, $J_{3,4}=5.6$ Hz, H-3), 7.07–7.57 (m, 14 H, Ph), 7.70 (d, 1 H, $J_{2,3'}=16.0$ Hz, H-3').

^{13}C NMR Spektar ($CDCl_3$): 64.53 (C-4), 67.46 (C-7), 69.95 (C-6), 71.32 (CH_2Ph na C-4), 73.35 (CH_2Ph na C-7), 76.78 (C-5), 116.00 i 116.21 (C-3", $J_{3'',F}=22$ Hz), 117.09 i 117.07 (C-2', $J_{2',F}=2.2$ Hz), 124.36 (C-2), 127.55, 127.62, 128.10, 128.13, 128.31, 128.53, 129.98, 130.06, 130.31, 130.34, 136.81, 137.83, (Ph), 142.46 (C-3), 144.36 (C-3'), 162.04 (C-1), 162.74 i 165.25 (C-4", $J_{4'',F}=252$ Hz), 165.32 (C-1').

Elementarna mikroanaliza: Izračunato za $C_{30}H_{27}FO_6$: C, 71.70; H, 5.42. Nađeno: C, 71.40; H, 5.46.

LRMS (ESI+): m/z 503 (M+H).

4.30 4,7-Di-*O*-benzil-6-*O*-(*trans*-4-metoksicinamoil)-2,3-dideoksi-D-arabino-hept-2-en-1,5-lakton (33)

Rastvoru jedinjenja **29** (0.11 g, 0.31 mmol) u anh. CH_2Cl_2 (11 mL) koji se meša na sobnoj temperaturi, sukcesivno se dodaju *trans*-4-metoksicimetna kiselina (0.111 g, 0.62 mmol), DCC

(0.134 g, 0.65 mmol) i DMAP (0.076 g, 0.62 mmol). Nakon 24 h, reakcioni rastvor se izlije u 10% rastvor NaCl (60 mL) i ekstrahuje sa CH₂Cl₂ (3×15 mL). Organske faze se spoje, suše i upare do suva, a dobijeni ostatak se dva puta prečisti fleš hromatografijom, prvo sa (1:4 EtOAc/PE) i potom sa (9:1 toluen/Me₂CO) pri čemu se dobija čisti proizvod **33** (0.129 g, 81%) koji kristalizacijom iz Et₂O/n-heksan daje beli prah tt 77 °C ili iz CH₂Cl₂/n-heksan u vidu belog praha 120 °C, $[\alpha]_D = -147.4$ (CHCl₃, *c* 0.5); $R_f = 0.46$ (17:3 toluen/Me₂CO).

IR (film): ν_{\max} 3020 (C–H, aromat), 1728 (C=O, α,β -nezasićeni), 1634 i 1513 (C–C, aromat), 1216 i 1161 (C–O, estar).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): 3.88 (s, 3 H, OMe), 3.96 (dd, 1 H, $J_{6,7a}=2.2$ Hz, $J_{7a,7b}=11.3$ Hz, H-7a), 4.02 (dd, 1 H, $J_{6,7b}=3.5$ Hz, $J_{7a,7b}=11.3$ Hz, H-7b), 4.08 (dd, 1H, $J_{4,5}=2.7$ Hz, $J_{3,4}=5.6$ Hz, H-4), 4.52 i 4.56 (2×d, 2 H, $J_{gem}=11.7$ Hz, CH₂Ph na C-4), 4.59 (s, 2 H, CH₂Ph na C-7), 4.85 (dd, $J_{4,5}=2.7$ Hz, $J_{5,6}=9.0$ Hz, H-5), 5.60 (ddd, $J_{6,7a}=2.2$ Hz, $J_{6,7b}=3.5$ Hz, $J_{5,6}=9.0$ Hz, H-6), 6.22 (d, 1 H, $J_{2,3}=9.8$ Hz, H-2), 6.32 (d, 1 H, $J_{2,3}=16.0$ Hz, H-2'), 6.93 (d, 2 H, $J=8.9$ Hz, H-3'' i H-5'''), 6.97 (dd, 1 H, $J_{2,3}=9.8$ Hz, $J_{3,4}=5.6$ Hz, H-3), 7.22–7.35 (m, 10 H, Ph iz 2×Bn), 7.51 (d, 2 H, $J=8.8$ Hz, H-2'' i H-6'''), 7.70 (d, 1 H, $J_{2,3'}=16.0$ Hz, H-3').

¹³C NMR Spektar (CDCl₃): 55.31 (OMe), 64.67(C-4), 67.58 (C-7), 69.80 (C-6), 71.53 i 73.46 (2CH₂Ph), 76.90 (C-5), 114.45 (C-3'' i C-5'''), 114.82 (C-2'), 124.41 (C-2), 126.90 (C-1'''), 129.92 (C-2'' i C-6'''), 127.64, 127.68, 128.01, 128.22, 128.39, 128.62, 136.95, 137.98 (Ar-C iz 2Bn), 142.60 (C-3), 145.51 (C-3'), 161.69 (C-4'''), 162.22 (C-1), 165.87 (C-1').

HRMS: Izračunato za C₃₁H₃₇O₇Na: 537.1889. Nađeno: 537.1884 (M⁺+Na).

4.31 4,7-Di-*O*-benzil-6-*O*-(*trans*-4-nitrocimamoil)-2,3-dideoksi-*D*-arabino-hept-2-en-1,5-lakton (**34**)

Rastvoru jedinjenja **29** (0.3 g, 0.9 mmol) u anh. CH₂Cl₂ (30 mL) koji se meša na sobnoj temperaturi, sukcesivno se dodaju *trans*-4-nitrocimmetna kiselina (0.33 g, 1.65 mmol), DCC (0.36 g, 1.8 mmol) i DMAP (0.21 g, 1.8 mmol). Nakon 24 h, reakcioni rastvor se izlije u 10% rastvor NaCl (200 mL) i ekstrahuje sa CH₂Cl₂ (3×30 mL). Organske faze se spoje, suše i upare do suva, a dobijeni ostatak se dva puta prečisti fleš hromatografijom (1:4 EtOAc/PE) pri čemu se dobija čisti proizvod **34** (0.36 g, 80%) koji kristalizacijom iz CH₂Cl₂/n-heksan daje beli prah tt 115 °C, $[\alpha]_D = -138.4$ (CHCl₃, *c* 0.5); $R_f = 0.35$ (2:3 EtOAc/PE).

IR (film): ν_{\max} 3020 (C–H, aromat), 1723 (C=O, α,β -nezasićeni), 1640 i 1454 (C–C, aromat), 1598 i 1520 (N=O, nitro aromat), 1204 i 1169 (C–O, estar).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): 3.97 (dd, 1 H, $J_{7a,7b}=11.3$ Hz, $J_{6,7a}=2.3$ Hz, H-7a), 4.02 (dd, 1 H, $J_{6,7b}=3.7$ Hz, $J_{7a,7b}=11.4$ Hz, H-7b), 4.08 (dd, 1 H, $J_{4,5}=2.7$ Hz, $J_{3,4}=5.6$ Hz, H-4), 4.50 i 4.60 (2×d, 2 H, $J_{\text{gem}}=11.7$ Hz, CH_2Ph , Bn na C-4), 4.58 (s, 2 H, CH_2Ph , Bn na C-7), 4.84 (dd, 1 H, $J_{4,5}=2.7$ Hz, $J_{5,6}=8.7$ Hz, H-5), 5.61 (dt, 1 H, $J_{6,7b}=3.5$ Hz, $J_{6,7a}=2.4$ Hz, $J_{5,6}=8.6$ Hz, H-6), 6.25 (d, 1 H, $J_{2,3}=9.8$ Hz, H-2), 6.52 (d, 1 H, $J_{2',3'}=16.0$ Hz, H-2'), 7.02 (dd, 1 H, $J_{2,3}=9.8$ Hz, $J_{3,4}=5.6$ Hz, H-3), 7.20–7.37 (m, 10 H, Ph iz Bn), 7.68 i 8.30 (2d, 4H, $J=8.7$ Hz, Ph iz p-nitrocinaмата), 7.71 (d, 1 H, $J_{2',3'}=16.1$ Hz, H-3').

^{13}C NMR Spektar (CDCl_3): 64.56 (C-4), 67.49 (C-7), 70.54 (C-6), 71.25 i 73.47 ($2\text{CH}_2\text{Ph}$), 76.83 (C-5), 121.72 (C-2'), 124.61 (C-2), 124.27, 127.67, 127.77, 127.85, 128.18, 128.25, 128.42, 128.47, 128.64, 128.75, 136.84, 137.82, 140.18, 148.70 (Ph), 142.38 (C-3), 142.66 (C-3'), 161.97 (C₁), 164.63 (C=O iz p-nitrocinaмата).

Elementarna mikroanaliza: Izračunato za $\text{C}_{30}\text{H}_{27}\text{NO}_8$: C, 68.04; H, 5.14; N, 2.65. Nađeno: C, 67.80; H, 5.22; N, 2.60.

LRMS (ESI+): m/z 530 (M+H).

4.32 7-O-Acetil-4-O-benzil-6-O-benzoil-2,3-dideoksi-D-arabino-hept-2-en-1,5-lakton (35)

Rastvoru jedinjenja **30** (0.125 g, 0.27 mmol) u anh. Et_2O (12 mL) se uz mešanje na sobnoj temperaturi sukcesivno dodaju Ac_2O (0.86 mL, 9.15 mmol) i tri porcije FeCl_3 (0.016 g, 0.1 mmol) sa međusobnim razmakom od 2 h. Nakon 24 h od početka reakcije, reakcioni rastvor se izlije u 2% NaHCO_3 (70 mL) i ekstrahuje sa CH_2Cl_2 (3×25 mL). Organske faze se spoje, suše i upare do suva, a dobijeni ostatak se prečisti fleš hromatografijom (49:1 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Me}_2\text{CO}$) pri čemu se dobija čisti proizvod **35** (0.108 g, 97%) u vidu bezbojne staklaste mase koja prelazi u belu masu sušenjem. Rekristalizacijom iz $\text{CH}_2\text{Cl}_2/n$ -heksan dobijaju se kristali vidu bele vune, t_f 173 °C, $[\alpha]_D = -214$ (CHCl_3 , c 0.25); $R_f = 0.36$ (97:3 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Me}_2\text{CO}$).

IR (film): ν_{max} 3020 (C–H, aromat), 1741 (C=O, lakton), 1603 (C–C, aromat), 1178 (OC=O, estar) 1069 i 1026 (=C–O–C, aromatični etar).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 2.05 (s, 3 H, $\text{CH}_3\text{C}=\text{O}$), 4.09 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 5.6$, $J_{4,5} = 2.7$ Hz, H-4), 4.47 (dd, 1 H, $J_{7a,7b} = 12.6$, $J_{6,7a} = 4.4$ Hz, H-7a), 4.46 and 4.55 (2 × d, 1 H each, $J_{\text{gem}} = 11.7$ Hz, CH_2Ph), 4.78 (dd, 1 H, $J_{5,6} = 8.6$, $J_{4,5} = 2.7$ Hz, H-5), 4.85 (dd, 1 H, $J_{7a,7b} = 12.6$, $J_{6,7b} = 2.4$ Hz, H-7b), 5.77 (ddd, 1 H, $J_{5,6} = 8.6$, $J_{6,7a} = 4.4$, $J_{6,7b} = 2.4$ Hz, H-6), 6.24 (d, 1 H, $J_{2,3} = 9.8$ Hz, H-2), 6.99 (dd, 1 H, $J_{2,3} = 9.8$, $J_{3,4} = 5.6$ Hz, H-3), 7.16–7.20 (m, 5 H, PhCH_2), 7.48 (m, 2 H, $J_{2'',3''} = 8.0$, $J_{3'',4''}$

= 7.4 Hz, H-3'' i H-5''), 7.63 (m, 1 H, $J_{3'',4''} = 7.4$, $J_{2'',4''} = 1.3$ Hz, H-4''), 8.01 (dd, 2 H, $J_{2'',4''} = 1.3$, $J_{2'',3''} = 8.0$ Hz, H-2'' i H-6'').

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ 20.75 ($\text{CH}_3\text{C}=\text{O}$), 61.86 (C-7), 64.42 (C-4), 69.02 (C-6), 71.47 (CH_2Ph), 77.25 (C-5), 124.46 (C-2), 128.12, 128.28, 128.53, 128.59, 129.39, 129.74, 133.54 i 136.57 ($2 \times \text{Ph}$), 142.52 (C-3), 161.74 (C-1), 165.00 (C-1'), 170.44 ($\text{CH}_3\text{C}=\text{O}$).

HRMS: Izračunato za $\text{C}_{23}\text{H}_{22}\text{O}_7\text{K}$: 449.0997. Nađeno: 449.1004 (M^+K).

4.33 7-O-Acetil-4-O-benzil-6-O-(*trans*-cinamoil)-2,3-dideoksi-D-arabino-hept-2-en-1,5-lakton (36)

Rastvoru jedinjenja **31** (0.1 g, 0.21 mmol) u anh. Et_2O (7 mL) se uz mešanje na sobnoj temperaturi sukcesivno se dodaju Ac_2O (0.4 mL, 4.23 mmol) i dve porcije FeCl_3 (0.01 g, 0.06 mmol) sa međusobnim razmakom od 4 h. Nakon 24 h, doda se nova porcija FeCl_3 (0.01 g, 0.06 mmol) i mešanje nastavi dodatnih 24 h. Reakcionom rastvor se izlije u 1% NaHCO_3 (70 mL) i ekstrahuje sa CH_2Cl_2 (3×20 mL). Organske faze se spoje, suše i upare do suva, a dobijeni ostatak se prečisti fleš hromatografijom (3:2 cikloheksan/ EtOAc) pri čemu se dobija čisti proizvod **36** (0.086 g, 96%) u vidu bezbojne staklaste mase koja kristališe iz $\text{Et}_2\text{O}/n$ -heksan u vidu bele vune tt 142 °C, $[\alpha]_{\text{D}} = -197$ (CHCl_3 , c 0.5); $R_f = 0.39$ (7:3 toluen/ EtOAc).

IR (KBr): ν_{max} 1736 i 1711 ($2 \times \text{C}=\text{O}$, α,β -nezasićeni), 1632 i 1496 (C–C, aromat), 1226 i 1163 (OC=O, estar).

IR (film): ν_{max} 3020 (C–H, aromat), 1739 (C=O, α,β -nezasićeni), 1637 i 1497 (C–C, aromat).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 2.08 (s, 3 H, $\text{CH}_3\text{C}=\text{O}$), 4.07 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 5.6$, $J_{4,5} = 2.7$ Hz, H-4), 4.42 (dd, 1 H, $J_{7a,7b} = 12.6$, $J_{6,7a} = 4.4$ Hz, H-7a), 4.53 i 4.59 ($2 \times$ d, 1 H svaki, $J_{\text{gem}} = 11.7$ Hz, CH_2Ph), 4.70 (dd, 1 H, $J_{5,6} = 8.5$, $J_{4,5} = 2.7$ Hz, H-5), 4.80 (dd, 1 H, $J_{7a,7b} = 12.6$, $J_{6,7b} = 2.3$ Hz, H-7b), 5.66 (ddd, 1 H, $J_{5,6} = 8.5$, $J_{6,7a} = 4.4$, $J_{6,7b} = 2.3$ Hz, H-6), 6.24 (d, 1 H, $J_{2,3} = 9.8$ Hz, H-2), 6.40 (d, 1 H, $J_{2',3'} = 16.0$ Hz, H-2'), 6.99 (dd, 1 H, $J_{2,3} = 9.8$, $J_{3,4} = 5.6$ Hz, H-3), 7.21–7.59 (m, 5 H, $2 \times \text{Ph}$), 7.74 (d, 1 H, $J_{2',3'} = 16.0$ Hz, H-3').

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ 20.80 ($\text{CH}_3\text{C}=\text{O}$), 61.90 (C-7), 64.40 (C-4), 68.59 (C-6), 71.53 (CH_2Ph), 77.23 (C-5), 116.96 (C-2'), 124.45 (C-2), 128.26, 128.33, 128.68, 129.01 i 130.76 (Ph), 134.03 (C-1''), 136.73 (C_q , Bn), 142.50 (C-3), 146.19 (C-3'), 148.73 (C-4''), 161.78 (C-1), 165.34 (C-1'), 170.47 ($\text{CH}_3\text{C}=\text{O}$).

HRMS: Izračunato za $\text{C}_{25}\text{H}_{24}\text{O}_7\text{Na}$: 459.1420. Nađeno: 459.1417 (M^+Na).

4.34 7-*O*-Acetil-4-*O*-benzil-6-*O*-(*trans*-4-fluorocinamoil)-2,3-dideoksi-D-arabino-hept-2-en-1,5-lakton (37)

Rastvoru jedinjenja **32** (0.15 g, 0.3 mmol) u anh. Et₂O (14 mL) se uz mešanje na sobnoj temperaturi sukcesivno dodaju Ac₂O (1 mL, 10.58 mmol) i dve porcije FeCl₃ (0.016 g, 0.1 mmol) sa međusobnim razmakom od 4 h. Nakon 24 h, doda se nova porcija FeCl₃ (0.016 g, 0.1 mmol) i mešanje nastavi dodatnih 6 h. Reakcionom rastvor se izlije u 2% NaHCO₃ (70 mL) i ekstrahuje sa CH₂Cl₂ (3×25 mL). Organske faze se spoje, suše i upare do suva, a dobijeni ostatak se prečisti fleš hromatografijom (3:2 cikloheksan/EtOAc) pri čemu se dobija čisti proizvod **37** (0.129 g, 95%) u vidu bezbojne staklaste mase koja kristališe iz CH₂Cl₂/n-heksan u vidu bele vune tt 145 °C, [α]_D = -175.2 (CHCl₃, *c* 0.5); R_f = 0.43 (7:3 toluen/EtOAc).

IR (KBr): ν_{max} 1734 i 1714 (2×C=O, α,β-nezasićeni), 1636, 1600 i 1510 (C–C, aromat), 1232 i 1162 (C–O, estar).

IR (film): ν_{max} 3020 (C–H, aromat), 1740 (C=O, α,β-nezasićeni), 1638, 1602 i 1510 (C–C, aromat), 1216 i 1159 (C–O, estar).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 2.07 (s, 3 H, CH₃C=O), 4.07 (dd, 1 H, J_{3,4} = 5.6, J_{4,5} = 2.7 Hz, H-4), 4.41 (dd, 1 H, J_{7a,7b} = 12.6, J_{6,7a} = 4.5 Hz, H-7a), 4.53 and 4.59 (2 × d, 1 H each, J_{gem} = 11.7 Hz, CH₂Ph), 4.69 (dd, 1 H, J_{5,6} = 8.5, J_{4,5} = 2.7 Hz, H-5), 4.80 (dd, 1 H, J_{7a,7b} = 12.6, J_{6,7b} = 2.3 Hz, H-7b), 5.65 (ddd, 1 H, J_{5,6} = 8.4, J_{6,7a} = 4.4, J_{6,7b} = 2.3 Hz, H-6), 6.24 (d, 1 H, J_{2,3} = 9.8 Hz, H-2), 6.30 (d, 1 H, J_{2',3'} = 16.0 Hz, H-2'), 7.00 (dd, 1 H, J_{2,3} = 9.8, J_{3,4} = 5.6 Hz, H-3), 7.12 (t, 2 H, J_{5',6'} = 8.6, H-3'' and H-5''), 7.23–7.33 (m, 5 H, PhCH₂), 7.54 (dd, 2 H, J = 8.7, J = 5.4 Hz, H-2'' and H-6''), 7.69 (d, 1 H, J_{2',3'} = 16.0 Hz, H-3').

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 20.79 (CH₃C=O), 61.87 (C-7), 64.40 (C-4), 68.68 (C-6), 71.47 (CH₂Ph), 77.22 (C-5), 116.10 i 116.31 (C-3'' i C-5''), J_{3'',F} = 21.0 Hz), 116.70 i 116.72 (C-2', J_{2',F} = 2.0 Hz), 124.47 (C-2), 128.25, 128.32, 128.67, 136.73 (PhCH₂), 130.13 i 130.22 (C-2'' i C-6'', J_{2'',F} = 9.0 Hz), 130.29 i 130.32 (C-1'', J_{1'',F} = 3.0 Hz), 142.47 (C-3), 144.83 (C-3'), 161.75 (C-1), 162.90 i 165.40 (C_q-4'', J_{4'',F} = 250.0 Hz), 165.23 (C-1'), 170.47 (CH₃C=O).

HRMS: Izračunato za C₂₅H₂₃FO₇Na: 477.1326. Nađeno: 477.1321 (M⁺+Na).

4.35 7-O-Acetil-4-O-benzil-6-O-(*trans*-4-metoksicinamoil)-2,3-dideoksi-D-arabino-hept-2-en-1,5-lakton (38)

Rastvoru jedinjenja **33** (0.16 g, 0.31 mmol) u smesi anh. Et₂O (16 mL) i Ac₂O (1 mL, 10.58 mmol) se uz mešanje na sobnoj temperaturi, sukcesivno dodaju dve porcije FeCl₃ (0.017 g, 0.1 mmol) sa međusobnim razmakom od 4 h. Nakon 24 h, doda se nova porcija FeCl₃ (0.017 g, 0.1 mmol) i mešanje nastavi dodatnih 24 h. Reakcionom rastvor se izlije u 2% NaHCO₃ (70 mL) i ekstrahuje sa CH₂Cl₂ (3×30 mL). Organske faze se spoje, suše i upare do suva, a dobijeni ostatak se prečisti fleš hromatografijom (3:2 cikloheksan/EtOAc) pri čemu se dobija čisti proizvod **38** (0.115 g, 79%) u vidu bezbojne staklaste mase koja kristališe iz CH₂Cl₂/n-heksan u vidu bele vune (sitnozrni kristali pod mikroskopom) t_t 113 °C, $[\alpha]_D = -152.4$ (CHCl₃, c 0.5); $R_f = 0.35$ (7:3 toluen/EtOAc).

IR (KBr): ν_{\max} 3033 (C–H, aromat), 1752 i 1711 (2×C=O, α,β -nezasićeni), 1639, 1602 i 1513 (C–C, aromat), 1229 i 1170 (C–O, estar).

IR (film): ν_{\max} 3020 (C–H, aromat), 1737 (C=O, α,β -nezasićeni), 1604 i 1514 (C–C, aromat), 1216 i 1157 (C–O, estar).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 2.07 (s, 3 H, CH₃C=O), 3.87 (s, 3 H, OCH₃), 4.07 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 5.6$, $J_{4,5} = 2.7$ Hz, H-4), 4.41 (dd, 1 H, $J_{7a,7b} = 12.6$ Hz, $J_{6,7a} = 4.5$ Hz, H-7a), 4.53 i 4.58 (2 × d, 1 H svaki, $J_{\text{gem}} = 11.7$ Hz, CH₂Ph), 4.69 (dd, 1 H, $J_{5,6} = 8.5$, $J_{4,5} = 2.7$ Hz, H-5), 4.79 (dd, 1 H, $J_{7a,7b} = 12.6$, $J_{6,7b} = 2.3$ Hz, H-7b), 5.65 (ddd, 1 H, $J_{5,6} = 8.4$, $J_{6,7a} = 4.4$, $J_{6,7b} = 2.3$ Hz, H-6), 6.22 (d, 1 H, $J_{2,3} = 9.8$ Hz, H-2), 6.26 (d, 1 H, $J_{2',3'} = 16.0$ Hz, H-2'), 6.95 (d, 2 H, $J_{5',6'} = 8.8$ Hz, H-3'' i H-5''), 6.98 (dd, 1 H, $J_{2,3} = 9.8$, $J_{3,4} = 5.6$ Hz, H-3), 7.22–7.33 (m, 5 H, PhCH₂), 7.50 (d, 2 H, $J = 8.8$ Hz, H-2'' i H-6''), 7.69 (d, 1 H, $J_{2',3'} = 16.0$ Hz, H-3').

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 20.81 (CH₃C=O), 55.44 (CH₃O), 61.98 (C-7), 64.44 (C-4), 68.37 (C-6), 71.57 (CH₂Ph), 77.29 (C-5), 114.32 (C-2'), 114.44 (C-3'' i C-5''), 124.39 (C-2), 126.77 (C-1''), 128.26, 128.31, 128.66, 136.78 (PhCH₂), 129.99 (C-2'' i C-6'), 142.55 (C-3), 145.88 (C-3'), 161.76 (C-4''), 161.84 (C-1), 170.48 (CH₃C=O).

HRMS: Izračunato za C₂₆H₂₆O₈Na: 489.1525. Nađeno: 489.1525 (M⁺+Na).

4.36 7-O-Acetil-4-O-benzil-6-O-(*trans*-4-nitrocinaoil)-2,3-dideoksi-D-arabino-hept-2-en-1,5-lakton (39)

Rastvoru jedinjenja **34** (0.145 g, 0.27 mmol) u smesi anh. Et₂O (14 mL) i Ac₂O (1 mL, 10.58 mmol) se uz mešanje na sobnoj temperaturi dodaju dve porcije FeCl₃ (0.015 g, 0.09 mmol) sa

razmakom od 4 h. Nakon 24 h, doda se treća porcija FeCl_3 (0.015 g, 0.09 mmol) i reakcija nastavi dodatnih 6 h. Reakcioni rastvor se izlije u 2% NaHCO_3 (70 mL) i ekstrahuje sa CH_2Cl_2 (3×20 mL). Organske faze se spoje, suše i upare do suva, a dobijeni ostatak se rastvori u minimalnoj količini CH_2Cl_2 i prečisti fleš hromatografijom (4:1 toluen/EtOAc) pri čemu se dobija čisti proizvod **39** (0.11 g, 83%) u vidu bezbojne staklaste mase. Kristalizacijom iz CH_2Cl_2 /n-heksan u vidu sitnozrnih žutih kristala tt 170°C , $[\alpha]_D = -144.2$ (CHCl_3 , c 0.5); $R_f = 0.39$ (7:3 toluen/EtOAc).

IR (KBr): ν_{max} 1738 (C=O, α,β -nezasićeni), 1636 i 1600 (C–C, aromat), 1521, 1518 i 1339 (N=O, nitro aromat), 1231 i 1174 (C–O, estar).

IR (film): ν_{max} 3020 (C–H, aromat), 1736 (C=O, α,β -nezasićeni), 1602 (C–C, aromat), 1524, 1476 i 1347 (N=O, nitro aromat), 1218 (C–O, estar).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 2.07 (s, 3 H, $\text{CH}_3\text{C}=\text{O}$), 4.08 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 5.6$, $J_{4,5} = 2.7$ Hz, H-4), 4.40 (dd, 1 H, $J_{7a,7b} = 12.6$, $J_{6,7a} = 4.5$ Hz, H-7a), 4.52 i 4.61 ($2 \times$ d, 1 H svaki, $J_{\text{gem}} = 11.8$ Hz, CH_2Ph), 4.61 (dd, 1 H, $J_{5,6} = 8.4$, $J_{4,5} = 2.7$ Hz, H-5), 4.83 (dd, 1 H, $J_{7a,7b} = 12.6$, $J_{6,7b} = 2.3$ Hz, H-7b), 5.65 (ddd, 1 H, $J_{5,6} = 8.4$, $J_{6,7a} = 4.4$, $J_{6,7b} = 2.3$ Hz, H-6), 6.25 (d, 1 H, $J_{2,3} = 9.8$ Hz, H-2), 6.48 (d, 1 H, $J_{2',3'} = 16.0$ Hz, H-2'), 7.03 (dd, 1 H, $J_{2,3} = 9.8$, $J_{3,4} = 5.6$ Hz, H-3), 7.21–7.33 (m, 5 H, PhCH_2), 7.69 i 8.28, ($2 \times$ d, 2 H svaki, $J_{2'',3''} = 8.8$ Hz, Ph, 4-nitrocinnamate), 7.73 (d, 1 H, $J_{2',3'} = 16.0$ Hz, H-3').

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ 20.79 ($\text{CH}_3\text{C}=\text{O}$), 61.71 (C-7), 64.29 (C-4), 69.23 (C-6), 71.31 (CH_2Ph), 77.08 (C-5), 121.27 (C-2'), 124.25 (C-2'' i C-6''), 124.57 (C-2), 128.25, 128.34 i 128.69 (CH, Bn), 128.83 (C-3'' and C-5''), 136.67 (C_q , Bn), 140.06 (C-1''), 142.37 (C-3), 143.03 (C-3'), 148.73 (C-4''), 161.62 (C-1), 164.46 (C-1'), 170.48 ($\text{CH}_3\text{C}=\text{O}$).

HRMS: Izračunato za $\text{C}_{25}\text{H}_{23}\text{NO}_9\text{K}$: 520.1010. Nađeno: 520.1007 ($\text{M}^+ + \text{K}$).

4.37 4,7-Di-O-Acetil-6-O-benzoil-2,3-dideoksi-D-arabino-hept-2-en-1,5-lakton (40)

Rastvoru jedinjenja **30** (0.17 g, 0.37 mmol) u anh. CH_2Cl_2 (17 mL) se uz mešanje na sobnoj temperaturi sukcesivno dodaju AcBr (0.33 mL, 4.45 mmol) i dve porcije $\text{Zn}(\text{OTf})_2$ (0.027 g, 0.07 mmol) sa razmakom od 1 h. Nakon 20 h, reakcioni rastvor se izlije u 1% NaHCO_3 (100 mL) i ekstrahuje sa CH_2Cl_2 (3×15 mL). Organska faza u vidu bele emulzije se suši i upari do suva, a dobijeni ostatak se dva puta prečisti fleš hromatografijom (97:3 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Me}_2\text{CO}$) pri čemu se dobija čisti proizvod **40** (0.07 g, 52%) u vidu bezbojne staklaste mase. Sporom kristalizacijom iz

razblaženog rastvora CH₂Cl₂/n-heksan dobijaju se kristali u vidu bele vune (tanke duge iglice), *t*_t 75 °C, $[\alpha]_D = -231.6$ (CHCl₃, *c* 0.25); *R*_f = 0.31 (97:3 CH₂Cl₂/Me₂CO).

IR (film): ν_{\max} 3021 (C–H, aromat), 1744 (C=O, lakton), 1603 (C–C, aromat) i 1178 (OC=O, estar).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 2.05 i 2.07 (2 × s, 3 H svaki, 2 × CH₃C=O), 4.43 (dd, 1 H, *J*_{7a,7b} = 12.6, *J*_{6,7a} = 4.7 Hz, H-7a), 4.78 (dd, 1 H, *J*_{7a,7b} = 12.6, *J*_{6,7b} = 2.4 Hz, H-7b), 4.90 (dd, 1 H, *J*_{5,6} = 9.1, *J*_{4,5} = 2.7 Hz, H-5), 5.35 (dd, 1 H, *J*_{3,4} = 6.0, *J*_{4,5} = 2.7 Hz, H-4), 5.68 (ddd, 1 H, *J*_{5,6} = 9.1, *J*_{6,7a} = 4.7, *J*_{6,7b} = 2.4 Hz, H-6), 6.27 (d, 1 H, *J*_{2,3} = 9.7 Hz, H-2), 7.04 (dd, 1 H, *J*_{2,3} = 9.7, *J*_{3,4} = 6.0 Hz, H-3), 7.46 (t, 2 H, *J*_{2'',3''} = 8.0, *J*_{3'',4''} = 7.4 Hz, H-3'' i H-5''), 7.61 (m, 1 H, *J*_{3'',4''} = 7.4, *J*_{2'',4''} = 1.3 Hz, H-4''), 7.98 (dd, 2 H, *J*_{2'',4''} = 1.3, *J*_{2'',3''} = 8.0 Hz, H-2'' i H-6'').

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 20.37 i 20.71 (2 × CH₃C=O), 60.36 (C-4), 61.87 (C-7), 68.18 (C-6), 75.70 (C-5), 125.15 (C-2), 128.61 (C-3'' i C-5''), 128.61 (C-1''), 129.70 (C-2'' i C-6''), 133.72 (C-4''), 140.01 (C-3), 161.15 (C-1), 165.04 (C-1'), 169.72 i 170.44 (2 × CH₃C=O).

HRMS: Izračunato za C₁₈H₁₈O₈K: 401.0633. Nađeno: 401.0639 (M⁺+K).

4.38 4,7-Di-*O*-Acetil-6-*O*-(*trans*-cinamoil)-2,3-dideoksi-D-*arabino*-hept-2-en-1,5-lakton (41)

Rastvoru jedinjenja **31** (0.125 g, 0.26 mmol) u anh. CH₂Cl₂ (12 mL) se uz mešanje na sobnoj temperaturi sukcesivno dodaju AcBr (0.23 mL, 3.12 mmol) i dve porcije Zn(OTf)₂ (0.019 g, 0.05 mmol) sa razmakom od 1 h i reakcija nastavi na sobnoj temperaturi dodatnih 20 h. Reakcioni rastvor se upari do suva, a dobijeni ostatak se dva puta prečisti fleš hromatografijom, prvo sa (1:4 Me₂CO/PE) i potom sa (9:1 toluen/Me₂CO) pri čemu se dobija nerazdvojiva smesa (0.075 g) proizvoda sa većinskim (približno 4:1) **41** i **36** u vidu bezbojne staklaste mase. Rastvoru smese jedinjenja **41** i **36** (0.075 g) u anh. Et₂O (5 mL) se uz mešanje na sobnoj temperaturi sukcesivno dodaju Ac₂O (0.4 mL, 4.23 mmol) i FeCl₃ (0.01 g, 0.06 mmol). Nakon 24 h, reakcionom rastvor se izlije u 1% NaHCO₃ (70 mL) i ekstrahuje sa CH₂Cl₂ (3×20 mL). Organske faze se spoje, suše i upare do suva, a dobijeni ostatak se prečisti fleš hromatografijom (3:2 cikloheksan/EtOAc) pri čemu se dobija čisti proizvod **41** (0.065 g, 65%) u vidu bezbojne staklaste mase koja kristališe iz Et₂O/n-heksan u vidu bele vune (sitnozrni prah pod mikroskopom) *t*_t 112 °C, $[\alpha]_D = -203$ (CHCl₃, *c* 0.5); *R*_f = 0.35 (17:3 toluen/Me₂CO).

IR (KBr): ν_{\max} 1742 i 1717 (2×C=O, α,β -nezasićeni), 1638, 1578 i 1496 (C–C, aromat), 1230 i 1168 (OC=O, estar).

IR (film): ν_{\max} 3028 (C–H, aromat), 1746 (C=O, α,β -nezasićeni), 1636, 1578 i 1497 (C–C, aromat), 1228 i 11578 (OC=O, estar).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 2.07 i 2.08 ($2 \times \text{s}$, 3 H svaki, $2 \times \text{CH}_3\text{C}=\text{O}$), 4.37 (dd, 1 H, $J_{6,7a} = 4.6$, $J_{7a,7b} = 12.5$ Hz, H-7a), 4.72 (dd, 1 H, $J_{6,7b} = 2.4$, $J_{7a,7b} = 12.5$ Hz, H-7b), 4.82 (dd, 1 H, $J_{4,5} = 2.7$, $J_{5,6} = 9.2$ Hz, H-5), 5.35 (dd, 1 H, $J_{4,5} = 2.7$, $J_{3,4} = 6.0$ Hz, H-4), 5.55 (ddd, 1 H, $J_{6,7a} = 4.6$, $J_{6,7b} = 2.4$, $J_{5,6} = 9.2$ Hz, H-6), 6.27 (d, 1 H, $J_{2,3} = 9.7$ Hz, H-2), 6.39 (d, 1 H, $J_{2',3'} = 16.0$ Hz, H-2'), 7.04 (dd, 1 H, $J_{2,3} = 9.7$, $J_{3,4} = 6.0$ Hz, H-3), 7.37 i 7.56 (m, 5 H, Ph), 7.70 (d, 1 H, $J_{2',3'} = 16.0$ Hz, H-3').

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ 20.32 i 20.65 ($2 \times \text{CH}_3\text{C}=\text{O}$), 60.11 (C-4), 61.79 (C-7), 67.56 (C-6), 75.51 (C-5), 116.27 (C-2'), 125.06 (C-2), 128.23, 128.85, 130.73, 130.73 (Ph), 139.88 (C-3), 146.55 (C-3'), 161.08 (C-1), 165.16 (C-1'), 169.67 i 170.29 ($2 \times \text{CH}_3\text{C}=\text{O}$).

HRMS: Izračunato za $\text{C}_{20}\text{H}_{20}\text{O}_8\text{Na}$: 411.1056. Nađeno: 411.1058 ($\text{M}^+ + \text{Na}$).

4.39 4,7-Di-O-Acetil-6-O-(*trans*-4-fluorocinamoil)-2,3-dideoksi-D-arabino-hept-2-en-1,5-lakton (42)

Rastvoru jedinjenja **32** (0.151 g, 0.3 mmol) u anh. CH_2Cl_2 (15 mL) se uz mešanje na sobnoj temperaturi sukcesivno dodaju AcBr (0.27 mL, 3.6 mmol) i četiri porcije $\text{Zn}(\text{OTf})_2$ (0.012 g, 0.036 mmol) sa razmakom od 1 h i reakcija nastavi na sobnoj temperaturi dodatnih 20 h. Reakcioni rastvor se upari do suva, a dobijeni ostatak se rastvori u minimalnoj količini CH_2Cl_2 i prečisti fleš hromatografijom (1:4 $\text{Me}_2\text{CO}/\text{PE}$) pri čemu se dobija nerazdvojiva smesa (0.103 g) proizvoda sa većinskim (približno 4:1) **42** i **37** u vidu bezbojne staklaste mase koja se koristi za narednu reakciju. Rastvoru prethodno dobijene smese jedinjenja u $\text{Ac}_2\text{O}/\text{anh Et}_2\text{O}$ (4 mL, 1:1) koja se meša na sobnoj temperaturi se doda FeCl_3 (0.016 g, 0.1 mmol). Nakon 24 h, reakcionom rastvor se izlije u 5% NaHCO_3 (70 mL) i ekstrahuje sa CH_2Cl_2 (3×25 mL). Organske faze se spoje, suše i upare do suva, a dobijeni ostatak se prečisti fleš hromatografijom (3:2 cikloheksan/ EtOAc) pri čemu se dobija čisti proizvod **42** (0.077 g, 63%) u vidu staklaste mase. $[\alpha]_{\text{D}} = -253.4$ (CHCl_3 , c 0.5); $R_f = 0.36$ (17:3 toluen/ Me_2CO).

IR (film): ν_{\max} 3020 (C–H, aromat), 1745 (C=O, α,β -nezasićeni), 1638 i 1510 (C–C, aromat), 1216 i 1157 (C–O, estar).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 2.09 i 2.10 ($2 \times \text{s}$, 3 H svaki, $2 \times \text{CH}_3\text{C}=\text{O}$), 4.36 (dd, 1 H, $J_{6,7a} = 4.6$, $J_{7a,7b} = 12.5$ Hz, H-7a), 4.72 (dd, 1 H, $J_{6,7b} = 2.3$, $J_{7a,7b} = 12.5$ Hz, H-7b), 4.82 (dd, 1 H, $J_{4,5} = 2.7$, $J_{5,6} = 9.2$ Hz, H-5), 5.40 (dd, 1 H, $J_{4,5} = 2.7$, $J_{3,4} = 6.0$ Hz, H-4), 5.54 (ddd, 1 H, $J_{6,7a} = 4.4$, $J_{6,7b} = 2.3$, $J_{5,6} = 9.2$ Hz, H-6), 6.27 (d, 1 H, $J_{2,3} = 9.6$ Hz, H-2), 6.31 (d, $J_{2',3'} = 16.0$ Hz, H-2'), 7.03 (dd, 1

H, $J_{2,3} = 9.7$, $J_{3,4} = 6.0$ Hz, H-3), 7.09 i 7.52 ($2 \times m$, 2 H svaki, H-2", H-3", H-5" i H-6"), 7.64 (d, 1 H, $J_{2',3'} = 16.0$ Hz, H-3').

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ 20.38 i 20.69 ($2 \times \text{CH}_3\text{C}=\text{O}$), 60.12 (C-4), 61.79 (C-7), 67.66 (C-6), 75.52 (C-5), 115.99 i 116.06 (C-3", $J_{3'',\text{F}} = 22$ Hz), 116.08 i 116.21 (C-2', $J_{2',\text{F}} = 2.2$ Hz), 125.16 (C-2), 130.11, 130.14, 130.18, 130.27 (Ph), 139.86 (C-3), 145.25 (C-3'), 161.09 (C-1), 162.88 i 165.39 (C-4", $J_{4'',\text{F}} = 252$ Hz), 165.08 (C-1'), 169.75 i 170.33 ($2 \times \text{CH}_3\text{C}=\text{O}$).

HRMS: Izračunato za $\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{FO}_8\text{Na}$: 429.0962. Nađeno: 429.0960 (M^+Na).

4.40 4,7-Di-O-Acetil-6-O-(*trans*-4-metoksicinamoil)-2,3-dideoksi-D-arabino-hept-2-en-1,5-lakton (43)

Rastvoru jedinjenja **33** (0.11 g, 0.21 mmol) u anh. CH_2Cl_2 (11 mL) se uz mešanje na sobnoj temperaturi sukcesivno dodaju AcBr (0.19 mL, 2.56 mmol) i dve porcije $\text{Zn}(\text{OTf})_2$ (0.015 g, 0.04 mmol) sa razmakom od 1 h i reakcija nastavi na sobnoj temperaturi dodatnih 20 h. Reakcioni rastvor se upari do suva, a dobijeni ostatak se prečisti fleš hromatografijom (1:4 $\text{Me}_2\text{CO}/\text{PE}$) pri čemu se dobija nerazdvojiva smesa (0.045 g) proizvoda sa većinskim (približno 4:1) **43** i **38** u vidu bezbojne staklaste mase. Rastvoru smese jedinjenja **43** i **38** (0.045 g) u anh. Et_2O (5 mL) se uz mešanje na sobnoj temperaturi sukcesivno dodaju Ac_2O (0.4 mL, 4.23 mmol) i FeCl_3 (0.01 g, 0.06 mmol). Nakon 24 h, reakcionom rastvor se izlije u 1% NaHCO_3 (70 mL) i ekstrahuje sa CH_2Cl_2 (3×20 mL). Organske faze se spoje, suše i upare do suva, a dobijeni ostatak se prečisti fleš hromatografijom (3:2 cikloheksan/ EtOAc) pri čemu se dobija čisti proizvod **43** (0.025 g, 28%) u vidu bezbojne staklaste mase, $[\alpha]_{\text{D}} = -294.2$ (CHCl_3 , c 0.5); $R_f = 0.34$ (7:3 toluen/ EtOAc).

IR (film): ν_{max} 3021 (C–H, aromat), 1744 (C=O, α,β -nezasićeni), 1638 i 1514 (C–C, aromat), 1216 i 1151 (C–O, estar).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 2.08 and 2.10 ($2 \times s$, 3 H svaki, $2 \times \text{CH}_3\text{C}=\text{O}$), 3.86 (s, 3 H, OCH_3), 4.37 (dd, 1 H, $J_{6,7a} = 4.6$, $J_{7a,7b} = 12.5$ Hz, H-7a), 4.71 (dd, 1 H, $J_{6,7b} = 2.3$, $J_{7a,7b} = 12.5$ Hz, H-7b), 4.82 (dd, 1 H, $J_{4,5} = 2.7$, $J_{5,6} = 9.2$ Hz, H-5), 5.35 (dd, 1 H, $J_{4,5} = 2.7$, $J_{3,4} = 6.0$ Hz, H-4), 5.55 (ddd, 1 H, $J_{6,7a} = 4.6$, $J_{6,7b} = 2.3$ Hz, $J_{5,6} = 9.2$ Hz, H-6), 6.26 (d, 1 H, $J_{2',3'} = 16.0$ Hz, H-2'), 6.27 (d, 1 H, $J_{2,3} = 9.7$ Hz, H-2), 6.92 i 7.49 ($2 \times d$, 4 H, $J = 8.7$ Hz, Ph), 7.05 (dd, 1 H, $J_{2,3} = 9.7$, $J_{3,4} = 6.0$ Hz, H-3), 7.67 (d, 1 H, $J_{2',3'} = 16.0$ Hz, H-3').

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ 20.44 i 20.77 ($2 \times \text{CH}_3\text{C}=\text{O}$), 55.42 (OCH_3), 60.27 (C-4), 61.98 (C-7), 67.44 (C-6), 75.67 (C-5), 113.69 (C-2'), 125.16 (C-2), 114.39, 126.66, 130.09, 161.82 (Ph), 140.02 (C-3), 146.36 (C-3'), 161.24 (C-1), 165.58 (C-1'), 169.82 i 170.42 ($2 \times \text{CH}_3\text{C}=\text{O}$).

HRMS: Izračunato za: 441.1165 Nađeno: C₂₁H₂₂O₉Na: 441.1162. (M⁺+Na).

4.41 4,7-Di-O-Acetil-6-O-(*trans*-4-nitrocinaoil)-2,3-dideoksi-D-arabino-hept-2-en-1,5-lakton (44)

Rastvoru jedinjenja **34** (0.15 g, 0.28 mmol) u anh. CH₂Cl₂ (15 mL) se uz mešanje na sobnoj temperaturi sukcesivno dodaju AcBr (0.26 mL, 3.42 mmol) i četiri porcije Zn(OTf)₂ (0.012 g, 0.036 mmol) sa razmakom od 1 h i reakcija nastavi na sobnoj temperaturi dodatnih 20 h. Reakcioni rastvor se upari do suva, a dobijeni ostatak se rastvori u minimalnoj količini CH₂Cl₂ i prečisti fleš hromatografijom (1:4 Me₂CO/PE) pri čemu se dobija pri čemu se dobija nerazdvojiva smesa (0.1 g) proizvoda sa većinskim (približno 4:1) **44** i **38** u vidu bezbojne staklaste mase koja se koristi za narednu reakciju. Rastvoru prethodno dobijene smese jedinjenja u Ac₂O/anh Et₂O (6 mL, 2:1) koja se meša na sobnoj temperaturi se doda FeCl₃ (0.016 g, 0.1 mmol). Nakon 24 h, reakcionom rastvor se izlije u 5% NaHCO₃ (70 mL) i ekstrahuje sa CH₂Cl₂ (3×25 mL). Organske faze se spoje, suše i upare do suva, a dobijeni ostatak se prečisti fleš hromatografijom (3:2 cikloheksan/EtOAc) pri čemu se dobija čisti proizvod **44** (0.067 g, 55%) u obliku bezbojne staklaste mase, [α]_D = - 198.6 (CHCl₃, c 0.5); R_f = 0.37 (17:3 toluen/Me₂CO).

IR (film): ν_{max} 3023 (C–H, aromat), 1742 (C=O, α,β-nezasićeni), 1640, 1600 i 1521 (C–C, aromat), 1521 i 1346 (N=O, nitro aromat), 1228 i 1162 (C–O, estar).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 2.09 i 2.10, (2 × s, 3 H svaki, 2 × CH₃C=O), 4.37 (dd, 1 H, J_{6,7a} = 4.5, J_{7a,7b} = 12.7 Hz, H-7a), 4.76 (dd, 1 H, J_{6,7b} = 2.3, J_{7a,7b} = 12.7 Hz, H-7b), 4.83 (dd, 1 H, J_{4,5} = 2.7, J_{5,6} = 9.2 Hz, H-5), 5.40 (dd, 1 H, J_{4,5} = 2.7, J_{3,4} = 6.0 Hz, H-4), 5.56 (ddd, 1 H, J_{6,7a} = 4.5, J_{6,7b} = 2.3, J_{5,6} = 9.2 Hz, H-6), 6.29 (d, 1 H, J_{2,3} = 9.7 Hz, H-2), 6.52 (d, 1 H, J_{2',3'} = 16.0 Hz, H-2'), 7.05 (dd, 1 H, J_{2,3} = 9.7 Hz, J_{3,4} = 6.0 Hz, H-3), 7.70 i 8.28 (2 × d, 2 H svaki, J = 8.8 Hz, Ph), 7.73 (d, 1 H, J_{2',3'} = 16.0 Hz, H-3').

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 20.46 i 20.74 (2 × CH₃C=O), 60.04 (C-4), 61.67 (C-7), 68.21 (C-6), 75.44 (C-5), 120.72 (C-2'), 125.32 (C-2), 124.21, 128.93, 139.90, 148.79 (Ph), 139.76 (C-3), 143.54 (C-3'), 161.02 (C-1), 164.42 (C-1'), 169.84 i 170.38 (2 × CH₃C=O).

HRMS: Izračunato za C₂₀H₁₉NO₁₀Na: 456.0907. Nađeno: 456.0906 (M⁺+Na).

4.42 6,7-Di-*O*-Acetil-4-*O*-benzil-2,3-dideoksi-D-*arabino*-hept-2-en-1,5-lakton (45)

A) Rastvoru jedinjenja **28** (0.05 g, 0.11 mmol) u anh. CH₂Cl₂ (5 mL) se uz mešanje na sobnoj temperaturi sukcesivno dodaju Ac₂O (0.2 mL, 2.12 mmol) i tri porcije FeCl₃ (0.009 g, 0.06 mmol) sa međusobnim razmakom od 1 h. Nakon 24 h od početka reakcije, reakcioni rastvor se upari do suva, rastvori u anh CH₃CN (5 mL) i upari sa silikagelom do suva. Ostatak se dva puta prečisti fleš hromatografijom, prvo sa (9:11 EtOAc/PE) i potom sa (9:1 CH₂Cl₂/Me₂CO) pri čemu se dobija čisti proizvod **45** (0.021 g, 54%) u vidu bezbojne staklaste mase koja dugim sušenjem prelazi u voskastu masu.

B) Rastvoru jedinjenja **29** (0.2 g, 0.56 mmol) u anh. Et₂O (15 mL) se uz mešanje na sobnoj temperaturi sukcesivno dodaju Ac₂O (1.5 mL, 15.87 mmol) i tri porcije FeCl₃ (0.031 g, 0.19 mmol) sa međusobnim razmakom od 1 h. Nakon 5 h od početka reakcije, reakcioni rastvor se izlije u 2% NaHCO₃ (150 mL) i ekstrahuje sa CH₂Cl₂ (3×30 mL). Organske faze se spoje, suše i upare do suva, a dobijeni ostatak se prečisti fleš hromatografijom (9:11 EtOAc/PE) pri čemu se dobija čisti proizvod **45** (0.171 g, 87%) u vidu bezbojne staklaste mase koja dugim sušenjem prelazi u voskastu masu. Sporom kristalizacijom iz razblaženog rastvora CH₂Cl₂/n-heksan dobijaju se kristali u vidu belog praha (komadići), tt 80 °C, [α]_D = - 241.6 (CHCl₃, c 0.25); R_f = 0.28 (4:1 Et₂O/PE).

IR (film): ν_{max} 3022 (C–H, aromat), 1745 (C=O, lakton), 1630 (C–C, aromat), 1153 (OC=O, estar) 1083 i 1025(=C–O–C, aromatični etar).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 1.98 (s, 3 H, CH₃C=O na O-6), 2.06 (s, 3 H, CH₃C=O at O-7), 4.00 (dd, 1 H, J_{3,4} = 5.6 Hz, J_{4,5} = 2.7 Hz, H-4), 4.27 (dd, 1 H, J_{7a,7b} = 12.6 Hz, J_{6,7a} = 4.0 Hz, H-7a), 4.49 i 4.58 (2 × d, 1 H svaki, J_{gem} = 11.8 Hz, CH₂Ph), 4.60 (dd, 1 H, J_{5,6} = 8.9, J_{4,5} = 2.7 Hz, H-5), 4.77 (dd, 1 H, J_{7a,7b} = 12.6, J_{6,7b} = 2.3 Hz, H-7b), 5.65 (ddd, 1 H, J_{5,6} = 8.9, J_{6,7a} = 4.0, J_{6,7b} = 2.3 Hz, H-6), 6.22 (d, 1 H, J_{2,3} = 9.8 Hz, H-2), 7.02 (dd, 1 H, J_{2,3} = 9.8, J_{3,4} = 5.6 Hz, H-3), 7.26–7.39 (m, 5 H, Ph).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 20.75 i 20.84 (2 × CH₃C=O), 61.41 (C-7), 64.11 (C-4), 68.49 (C-6), 71.23 (CH₂Ph), 76.85 (C-5), 124.53 (C-2), 128.23, 128.42 i 128.68 (CH, Ph), 136.67 (C_q, Ph), 142.50 (C-3), 161.73 (C-1), 169.36 i 170.51 (2 × CH₃C=O).

HRMS: Izračunato za C₁₈H₂₀O₇K: 387.0841. Nađeno: 387.0845 (M⁺+K).

4.43 6,7-Di-*O*-Acetil-4-*O*-benzoil-2,3-dideoksi-D-*arabino*-hept-2-en-1,5-lakton (46)

Rastvoru jedinjenja **45** (0.081 g, 0.23 mmol) i Bz₂O (0.158 g, 0.70 mmol) u anh. CH₂Cl₂ (10 mL) se uz mešanje na sobnoj temperaturi sukcesivno dodaju i tri porcije FeCl₃ (0.012 g, 0.07 mmol) sa međusobnim razmakom od 2 h. Nakon 24 h od početka reakcije, reakcioni rastvor se izlije u 2% NaHCO₃ (75 mL) i ekstrahuje sa CH₂Cl₂ (3×30 mL). Organske faze se spoje, suše i upare do suva, a dobijeni ostatak se prečisti fleš hromatografijom (2:3 EtOAc/PE) pri čemu se dobija čisti proizvod **46** (0.074 g, 88%) u vidu bezbojne staklaste mase. $[\alpha]_D = -286.2$ (CHCl₃, *c* 0.5); $R_f = 0.43$ (4:1 Et₂O/PE).

IR (film): ν_{\max} 3020 (C–H, aromat), 1750 (C=O, lakton) i 1602 (C–C, aromat).

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 1.98 (s, 3 H, CH₃C=O na O-6), 2.07 (s, 3 H, CH₃C=O na O-7), 4.30 (dd, 1 H, $J_{7a,7b} = 12.6$, $J_{6,7a} = 3.7$ Hz, H-7a), 4.72 (dd, 1 H, $J_{7a,7b} = 12.6$, $J_{6,7b} = 2.4$ Hz, H-7b), 4.87 (dd, 1 H, $J_{5,6} = 9.6$, $J_{4,5} = 2.6$ Hz, H-5), 5.42 (ddd, 1 H, $J_{5,6} = 9.6$, $J_{6,7a} = 3.7$, $J_{6,7b} = 2.4$ Hz, H-6), 5.62 (dd, 1 H, $J_{3,4} = 6.1$, $J_{4,5} = 2.6$ Hz, H-4), 6.31 (d, 1 H, $J_{2,3} = 9.7$ Hz, H-2), 7.14 (dd, 1 H, $J_{2,3} = 9.7$, $J_{3,4} = 6.1$ Hz, H-3), 7.41–8.00 (m, 5 H, PhC=O).

¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 20.54 i 20.71 (2 × CH₃C=O), 60.53 (C-4), 61.31 (C-7), 67.78 (C-6), 75.34 (C-5), 125.39 (C-2), 128.37, 128.65, 129.87 and 133.92 (PhC=O), 140.02 (C-3), 161.24 (C-1), 165.33 (PhC=O), 169.11 i 170.39 (2 × CH₃C=O).

HRMS: Izračunato za C₁₈H₂₀O₇K: 401.0633. Nađeno: 401.0634 (M⁺+K).

4.44 4,6-Di-*O*-benzil-7-*O*-benzoil-2,3-dideoksi-D-*arabino*-hept-2-en-1,5-lakton (47)

A) Rastvoru jedinjenja **28** (0.1 g, 0.22 mmol) i Bz₂O (0.127 g, 0.56 mmol) u anh. CH₂Cl₂ (10 mL) se uz mešanje na sobnoj temperaturi sukcesivno dodaju dve porcije FeCl₃ (0.012 g, 0.07 mmol) sa međusobnim razmakom od 1 h. Nakon 4 h od početka reakcije, reakcioni rastvor se izlije u 2% NaHCO₃ (75 mL) i ekstrahuje sa CHCl₃ (3×30 mL). Organske faze se spoje, suše i upare do suva, a dobijeni ostatak se prečisti fleš hromatografijom (3:2 Et₂O/PE) pri čemu se dobija čisti proizvod **47** (0.047 g, 46%) u vidu bele mase.

B) Rastvoru jedinjenja **28** (0.05 g, 0.11 mmol) i Bz₂O (0.152 g, 0.67 mmol) i u anh. Et₂O (12 mL) koji se meša na sobnoj temperaturi, se dodaju dve porcije FeCl₃ (0.01 g, 0.06 mmol) sa međusobnim razmakom od 0.5 h. Nakon 24 h od početka reakcije, dodaju se dve nove porcije FeCl₃

(0.01 g, 0.06 mmol) sa međusobnim razmakom od 0.5 h i mešanje nastavi dodatnih 23 h. Reakcioni rastvor se izlije u 2% NaHCO₃ (150 mL) i ekstrahuje sa Et₂O (3×30 mL). Organske faze se spoje, suše i upare do suva, a dobijeni ostatak se prečisti fleš hromatografijom (3:2 Et₂O/PE) pri čemu se dobija čisti proizvod **47** (0.051 g, 99%) u vidu bele mase. Rekrystalizacijom iz CH₂Cl₂/n-heksan dobijaju se bele kratke iglice tt 125 °C, $[\alpha]_D = -174$ (CHCl₃, c 0.25); $R_f = 0.45$ (7:3 Et₂O/PE).

IR (film): ν_{\max} 3031 (C–H, aromat), 1722 (C=O, lakton), 1601 (C–C, aromat), 1175 (OC=O, estar) 1059 i 1028 (=C–O–C, aromatični etar).

¹H NMR Spektar (CDCl₃): 4.28, (dd, 1 H, $J_{3,4}=5.7$ Hz, $J_{4,5}=2.6$ Hz, H-4), 4.34, (ddd, 1 H, $J_{6,7a}=3.4$ Hz, $J_{6,7b}=2.4$ Hz, $J_{5,6}=9.6$ Hz, H-6), 4.49-4.60, (m, 4 H, H-5, H-7a, CH₂Ph), 4.62, (d, 1 H, $J_{\text{gem}}=11.5$ Hz, CH₂Ph), 4.91, (d, 1 H, $J_{\text{gem}}=10.8$ Hz, CH₂Ph), 5.13, (dd, 1 H, $J_{6,7b}=2.4$ Hz, $J_{7a,7b}=12.4$ Hz, H-7b), 6.23, (d, 1 H, $J_{2,3}=9.8$ Hz, H-2), 6.99, (dd, 1 H, $J_{2,3}=9.8$ Hz, $J_{3,4}=5.7$ Hz, H-3), 7.24-8.20, (m, 15 H, Ar-H).

¹³C NMR Spektar (CDCl₃): 61.48 (C-7), 65.20 (C-4), 71.41 i 72.44 (2 CH₂Ph na C-4 i C-6), 74.30 (C-6), 77.93 (C-5), 124.47 (C-2), 127.75, 127.93, 127.96, 128.18, 128.42, 128.47, 128.59, 129.70, 130.05, 133.06, 137.49, 137.54 (Ar-C), 142.98 (C-3), 162.28 (C-1), 166.25 (C=O iz Bz).

HRMS: Izračunato za C₂₈H₂₆O₆K: 497.1361. Nađeno: 497.1358 (M⁺+K).

4.45 6,7-Di-O-Acetil-6-O-2,3-dideoksi-D-arabino-hept-2-en-1,5-lakton (48)

Rastvoru jedinjenja **45** (0.085 g, 0.24 mmol) u anh. CH₂Cl₂ (9 mL) se uz mešanje na sobnoj temperaturi sukcesivno dodaju dve porcije FeCl₃ (0.062 g, 0.38 mmol) sa međusobnim razmakom od 1.5 h. Nakon 3 h od početka reakcije, reakcioni rastvor se upari do suva, a dobijeni ostatak rastvori u anh. CH₃CN (10 mL) i upari sa silikagelom. Ostatak se dva puta prečisti fleš hromatografijom (3:47 Me₂CO/Et₂O) pri čemu se dobija čisti proizvod **48** (0.057 g, 90%) u vidu bezbojne staklaste mase, $[\alpha]_D = -56$ (CHCl₃, c 0.25); $R_f = 0.36$ (3:47 Me₂CO/Et₂O).

IR (film): ν_{\max} 3020 (C–H, aromat), 1740 (C=O, lakton), 1631 (C–C, aromat) i 1158 (OC=O, estar).

¹H NMR Spektar (CDCl₃): 2.08 i 2.12, (2x s, 2x3 H, 2 Ac), 3.23, (br s, 1 H, OH), 4.20, (dd, 1 H, $J_{4,5}=2.4$ Hz, $J_{3,4}=6.1$ Hz, H-4), 4.30, (dd, 1 H, $J_{7a,7b}=12.6$ Hz, $J_{6,7a}=4.8$ Hz, H-7a), 4.50, (dd, 1 H, $J_{4,5}=2.4$ Hz, $J_{5,6}=8.7$ Hz, H-5), 4.71, (dd, 1 H, $J_{7a,7b}=12.6$ Hz, $J_{6,7b}=2.4$ Hz, H-7b), 5.40, (ddd, 1 H, $J_{6,7b}=2.3$ Hz, $J_{6,7a}=4.8$ Hz, $J_{5,6}=8.7$ Hz, H-6), 6.15, (d, 1 H, $J_{2,3}=9.7$ Hz, H-2), 7.04, (dd, 1 H, $J_{2,3}=9.7$ Hz, $J_{3,4}=6.1$ Hz, H-3).

^{13}C NMR Spektar (CDCl_3): 20.77 i 20.91, (2Me iz 2 Ac), 59.22, (C-4), 62.00, (C-7), 68.87, (C-6), 77.42, (C-5), 123.13, (C-2), 143.70, (C-3), 162.39, (C-1), 170.75 i 170.88, (2OCOCH₃.)

HRMS: Izračunato za $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{O}_7\text{K}$: 297.0371. Nađeno: 297.0368 (M^+K).

4.46 4,6,7-Tri-*O*-benzil-6-*O*-2,3-dideoksi-D-likso-hept-2-en-1,5-lakton (49)

A) Kristalno jedinjenje **27** (0.27 g, 0.57 mmol) se rastvori u smesi aq. 98% CH_3CN (5 mL) uz mešanje na sobnoj temperaturi i sukcesivno se dodaju anh. Et_3N (0.24 mL, 1.7 mmol) i LiBr (0.492 g, 5.67 mmol). Nakon 7 h, reakcioni rastvor se upari do suva i ekstrahuje sa EtOAc (3×20 mL) iz H_2O (80 mL). Organske faze se spoje, suše i upare do suva, a dobijeni ostatak se suši u visokom vakuumu 12 h. Ostatak se uz mešanje na sobnoj temperaturi rastvori u anh EtOAc (25 mL) i sukcesivno se dodaju Ph_3P (0.327 g, 1.25 mmol) i tokom 3 min 40% DEAD (0.44 mL, 1.13 mmol). Nakon 3 h dodatnog mešanja, dodaju se nove porcije Ph_3P (0.109 g, 0.42 mmol) i 40% DEAD (0.15 mL, 0.39 mmol) i reakcija nastavi preko noći. Reakcioni rastvor se upari do suva, a dobijeni ostatak rastvori u minimalnoj količini CH_2Cl_2 i dva puta prečisti na koloni fleš silikagela, prvo sa (1:1 $\text{PE}/\text{Et}_2\text{O}$) i potom sa (99:1 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Me}_2\text{CO}$) pri čemu se dobija čisti proizvod **49** (0.101 g, 40%).

B) Rastvoru kristalnog jedinjenja **28** (0.20 g, 0.45 mmol) i LiBr (0.391 g, 4.5 mmol) u aq. 98% CH_3CN (5 mL) koji se meša na sobnoj temperaturi, se doda anh. Et_3N (0.19 mL, 1.35 mmol). Nakon 24 doda se cc AcOH (2 mL) i mešanje nastavi tokom 3 min. Reakcioni rastvor se izlije u H_2O (80 mL) i ekstrahuje sa EtOAc (3×20 mL), organske faze se spoje, suše i upare do suva, a dobijeni ostatak se suši u visokom vakuumu 4 h. Ostatak se uz mešanje na sobnoj temperaturi rastvori u anh EtOAc (25 mL) i sukcesivno se dodaju Ph_3P (0.295 g, 1.12 mmol) i tokom 3 min 40% DEAD (0.47 mL, 1.08 mmol). Nakon 20 h reakcioni rastvor se upari do suva, a dobijeni ostatak rastvori u minimalnoj količini CH_2Cl_2 i dva puta prečisti na koloni fleš silikagela, prvo sa (1:1 $\text{PE}/\text{Et}_2\text{O}$) i potom sa (99:1 $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Me}_2\text{CO}$) pri čemu se dobija čisti proizvod **49** (0.125 g, 62%) u vidu staklaste mase, $[\alpha]_{\text{D}} = -86.4$ (CHCl_3 , c 0.5); $R_f = 0.33$ (1:1 $\text{Et}_2\text{O}/\text{PE}$).

IR (film): ν_{max} 3020 (C–H, aromat), 1731 (C=O), 1497 (C–C, aromat), 1216 (OC=O, estar), 1101 i 1027 (=C–O–C, aromatični etar).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 3.84 (dd, 1 H, $J_{6,7a} = 6.4$, $J_{7a,7b} = 9.8$ Hz, H-7a), 3.88 (dd, 1 H, $J_{6,7b} = 5.8$, $J_{7a,7b} = 9.8$ Hz, H-7b), 4.01 (td, 1 H, $J_{6,7a} = 6.2$, $J_{6,7b} = 6.0$, $J_{5,6} = 1.9$ Hz, H-6), 4.34–4.84 (m, 8 H, $3 \times \text{CH}_2\text{Ph}$, H-4 i H-5), 5.99 (dd, 1 H, $J_{2,3} = 10.0$, $J_{2,4} = 1.8$ Hz, H-2), 6.85 (dd, 1 H, $J_{2,3} = 10.0$, $J_{3,4} = 2.2$ Hz, H-3), 7.25–7.43 (m, 15 H, $3 \times \text{Ph}$).

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ 68.80 (C-4), 69.03 (C-7), 71.56, 72.64 i 73.49 (CH_2Ph), 74.68 (C-6), 80.08 (C-5), 120.24 (C-2), 127.63, 127.68, 127.78, 127.87, 127.94, 128.13, 128.35, 128.51, 136.91, 137.78, 137.94 ($3 \times \text{Ph}$), 146.07 (C-3), 162.43 (C-1).

HRMS: Izračunato za $\text{C}_{28}\text{H}_{28}\text{O}_5\text{Na}$: 467.1834. Nađeno: 467.1827 (M^++Na).

4.47 (–)-5-epi-Kleistenolid (50)

Rastvoru jedinjenja **49** (0.1 g, 0.22 mmol), Bz_2O (0.124 g, 0.55 mmol) i BzOH (0.134 g, 1.1 mmol) u anh. CH_2Cl_2 (15 mL) se uz mešanje na sobnoj temperaturi doda FeCl_3 (0.007 g, 0.04 mmol). Nakon 2 h se sukcesivno dodaju FeCl_3 (0.004 g, 0.02 mmol), AcBr (0.16 mL, 2.2 mmol) i reakcija nastavi dodatnih 20 h. Reakcioni rastvor se razblaži sa CH_2Cl_2 (10 mL), izlije u 10% NaHCO_3 (60 mL) i ekstrahuje sa CH_2Cl_2 (3×15 mL). Organske faze se spoje, isperu sa 10% NaCl (30 mL), suše i upari do suva, a dobijeni ostatak se prečisti fleš hromatografijom (1:2 PE/ Et_2O) pri čemu se dobija čisti proizvod **50** (0.061 g, 76%) u vidu čvrste bele mase koja rekristalizacijom iz CH_2Cl_2 /n-heksan daje smesu kristala u obliku belih ljuspica i kratkih iglica koje se na 140 – 143 °C transformišu u bezbojnu staklastu masu izgleda mozaika od veoma kratih iglica sa oštrom t_f 152 °C, $[\alpha]_D = -30$ (CHCl_3 , c 0.5); $R_f = 0.33$ (2:1 $\text{Et}_2\text{O}/\text{PE}$).

IR (KBr): ν_{max} 1747 i 1717 ($2 \times \text{C}=\text{O}$), 1602 (C–C, aromat), 1177 (OC=O, estar).

IR (film): ν_{max} 1744 (C=O), 1604 (C–C, aromat), 1176 (OC=O, estar).

^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 2.10 i 2.13 ($2 \times s$, 3 H svaki, $2 \times \text{CH}_3\text{C}=\text{O}$), 4.56 (dd, 1 H, $J_{6,7a} = 7.3$, $J_{7a,7b} = 11.7$ Hz, H-7a), 4.61 (dd, 1 H, $J_{6,7b} = 5.3$, $J_{7a,7b} = 11.7$ Hz, H-7b), 4.74 (dd, 1 H, $J_{5,6} = 2.2$, $J_{4,5} = 8.5$ Hz, H-5), 5.50 (ddd, 1 H, $J_{5,6} = 2.2$, $J_{6,7b} = 5.3$, $J_{6,7a} = 7.3$ Hz, H-6), 5.57 (ddd, 1 H, $J_{2,4} = 1.9$, $J_{3,4} = 2.6$, $J_{4,5} = 8.5$ Hz, H-4), 6.10 (dd, 1 H, $J_{2,4} = 1.9$, $J_{2,3} = 10.0$ Hz, H-2), 6.77 (dd, 1 H, $J_{2,3} = 10.0$, $J_{3,4} = 2.7$ Hz, H-3), 7.40–8.05 (m, 5 H, Ph).

^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ 20.60 ($2 \times \text{CH}_3\text{C}=\text{O}$), 62.40 (C-7), 63.20 (C-4), 67.80 (C-6), 77.80 (C-5), 121.82 (C-2), 128.45, 129.31, 129.91, 133.25 (Ph), 144.09 (C-3), 160.89 (C-1), 165.83 (PhC=O), 169.64 i 169.91 ($2 \times \text{CH}_3\text{C}=\text{O}$).

Elementarna mikroanaliza: Izračunato za $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{O}_8$: C, 59.67; H, 5.01. Nađeno: C, 59.49; H, 4.89.

LRMS (ESI+): m/z 363 ($\text{M}+\text{H}$).

5 ZAKLJUČAK

U ovom radu je ostvarena nova, višefazna sinteza prirodnog laktona (–)-kleistenolida (**1**) i njegovih odgovarajućih C-4, C-5 i C-6 analoga na sledeći način:

1. Kao pogodno polazno jedinjenje upotrebljena je ekonomična i komercijalno pristupačna 1,2:5,6-di-O-izopropiliden- α -D-glukofuranoza (**2**) koja je prvo tretirana sa BnBr i NaH (0 °C, 0.5 h \rightarrow rt, 2 h) u anh. DMF-u, pri čemu je dobijeno benzilovano jedinjenje **3** (97%).
2. Hidrolitičko (aq 60% AcOH, rt) uklanjanje terminalne izopropilidenske grupe iz jedinjenja **3** je dalo intermedijerni diol **4** koji se koristio za narednu fazu u sirovom stanju. Naredne dve sintetičke faze su urađene primenom “one-pot” postupka. Naime, sirovo jedinjenje **4** je rastvoreno u anh. DCM-u i sukcesivno tretirano sa BzCl i AcCl u prisustvu DMAP-a kao baze na sobnoj temperaturi, pri čemu je dobijen odgovarajući estar **6** u prinosu od 83% računato na polazno jedinjenje **3**.
3. Sledeće tri sintetičke faze su urađene bez izolovanja intermedijera. Procedura je započela hidrolitičkim uklanjanjem izopropilidenske zaštitne grupe dejstvom 90% aq TFA u DCM-u (0.5 h \rightarrow rt 2.5 h) pri čemu se dobija intermedijerni laktol **7**. Sirovo jedinjenje **7** je potom tretirano H₅IO₆ u aq 50% EtOAc (0.5 h \rightarrow rt 3.5 h) što vodi nastajanju intermedijernog aldehida **7b** koji pri Z-selektivnoj Wittig-ovoj reakciji sa Ph₃P=CH₂CO₂Me (MCMP) u anh. MeOH na sobnoj temperaturi daje Z-olefin **8** u prinosu od 52% računato na polazni estar **6**.
4. Aciklični olefin **8**, dejstvom katalitičkih količina *p*-TSA \times H₂O u anh. DCM-u na sobnoj temperaturi tokom 48 h, daje očekivani 6-člani lakton **9** (90%) sa odgovarajućom 5,6-dihidro-piran-2-onskom strukturom.
5. Završne sintetičke faze koje podrazumevaju transformaciju benzilnog intermedijera **9** u (–)-kleistenolid (**1**) i alkoholni **10** koji će takođe poslužiti za dobijanje C-4 analoga. Lakton **9** je tretiran sa TiCl₄ u anh. DCM-u (rt, 24 h) pri čemu je uklonjena 4-O-benziletarska zaštita i dobijen odgovarajući sekundarni alkohol **10** (77%). Završna sintetička faza je urađena esterifikacijom jedinjenja **10** sa Ac₂O, u prisustvu katalitičke količine *p*-TSA \times H₂O, na sobnoj temperaturi u toku 4 h pri čemu je dobijen prirodni proizvod (–)-kleistenolid **1** (95%) i u konačnom prinosu od 17.4% iz devet sintetičkih faza.
6. Potom je upotrebljena „one pot“ metoda za deprotekciju i sukcesivno acetilovanje intermedijera **9** čime je dobijeno finalno jedinjenje **1** u visokom prinosu bez korićenja

jedinjenja **10** kao intermedijera. Naime, benzilni intermedijer **9** je direktno preveden u (-)-kleistenolid (**1**) primenom Lewis-ovih kiselina (FeCl_3 ili $\text{Zn}(\text{OTf})_2$) i AcBr na sobnoj temperaturi u visokim prinosima 81% i 94%. Jedinjenje **1** je prethodno pomenutom modifikacijom dobijeno u osam sintetičkih faza u konačnom prinosu od 31% i 35% čime je dupliran konačni prinos jedinjenja **1** u odnosu na prethodno publikovan rad⁴⁶ (17.4% iz devet sintetičkih faza).

Nakon totalne sinteze (-)-kleistenolida **1**, sintetizovali smo grupu analoga sa odabranim farmakoforama u položaju C-4 korišćenjem dva jedinjenja (**9** i **10**). Naime, benzilni analog **9** se može direktno prevesti u odgovarajuće C-4 analoge **1** reakcijom sa odabranim acilhalogenidima u prisustvu Lewis-ovih kiselina kao katalizatora, dok se alkoholno jedinjenje **10** može direktno esterifikovati ili eterifikovati primenom odabranih hemijskih metoda.

1. Prve dve reakcije na polaznom jedinjenju **9** sa 2,4,6-trihlorobenzoil hloridom i 3-*O*-metoksibenzoil hloridom u anh. DCM-u (FeCl_3 , rt, 24 h) su dale očekivane C-4 analoge **11** (44%) i **12** (79%). Međutim, reakcija sa *p*-toluensulfonil hloridom je protekla neočekivano pri čemu je došlo do debenzilovanja i spontane C-6→C-4 acil migracije acetilne grupe uz nastajanje C-6 monola **13** (49%).
2. Nova grupa cinamatnih C-4 analoga je dobijena Steglich-ovom⁴⁷ esterifikacijom u anh. DCM-u (DCC, DMAP, rt, 4h) preko intermedijernog alkohola **10** sa cimetnom kiselinom (**14**, 82%) i njenim derivatima 4-fluorocimetnom kiselinom (**15**, 74%), 4-metoksicimetnom kiselinom (**16**, 87%), 4-nitrocimetnom kiselinom (**17**, 62%) i 3,4-di-metoksicimetnom kiselinom (**18**, 75%).
3. Esterifikacije sa sulfonil hloridima (MsCl i TsCl) su izvedene u anh. DCM-u (DMAP, rt, 1h) dajući u visokim prinosima odgovarajuće estre **19** (87%) i **20** (81%).
4. Grupa sililovanih C-4 analoga je dobijena sa odgovarajućim reagensima (TBSOTf i TBDPSCI) preko intermedijernog alkohola **10** uz korišćenje piridina za TBSOTf i korišćenjem efikasnije metode⁴⁹ sililovanja za TBDPSCI sa N-metilimidazolom i jodom kao katalizatorom. Pri ovim reakcionim uslovima, dobijeni su željeni sililni C-4 analozi u visokim prinosima **21** (87%) i **22** (63%).
5. Na kraju planova vezanih za sintezu C-4 analoga, sintetisani su još i difenilsirćetni i hloridni analog jedinjenja **1**. Analog **23** je dobijen u visokom prinosu 91% primenom već pomenute Steglich-ove esterifikacije, za razliku od odgovarajućeg halogenida **24** koji je dobijen u skromnom prinosu od 25% primenom Appel-ove⁵⁰ reakcije.

Za sintezu ključnog intermedijera **29** koji je trebao biti dobijen u većim količinama za sintezu C-6 analoga (-)-kleistenolida (**1**), modifikovana je ranije publikovana sinteza¹³ iz 1,2:5,6-di-O-izopropiliden- α -D-glukofuranoze (**2**) u smislu masivnog korišćenja metoda spojenih sintetičkih faza i „one pot“ procedura na sledeći način:

1. Hemijske transformacije jedinjenja **2** u ključni intermedijer **29** su započele spojenim sintetičkim fazama u kojima je prvo hidrolitički uklonjena terminalna izopropilidenska zaštita sa aq 60% AcOH, a intermedijerno nastali triol **2a** je potom totalno benzilovan dejstvom NaH i BnBr u anh. DMF-u, pri čemu je dobijen intermedijerni tri-benzil derivat **25**. U uslovima kisele hidrolize sa 50 % aq TFA u DCM, jedinjenje **25** je prevedeno u laktol **26** koji je bez prečišćavanja korišćen u narednoj reakciji. Wittig-ova reakcija je urađena „one pot“ u aps. MeOH, pri čemu je laktol **26** prvo oksidovan perjodnom oksidacijom (NaIO₄) u intermedijerni aldehyd **26a** koji je potom podvrgnut reakciji sa Ph₃P=CHCO₂Me uz dobijanje acikličnog Z-olefina **27** u visokom prinosu od 75%. Ciklizacijom olefina **27** sa *p*-TsOH u DCM-u, dobijen je laktol **28** (96%). Tretmanom laktola **28** sa FeCl₃ i cc AcOH u DCM-u, dobijen je ciljani sekundarni monol **29** (63%).

Primenom Steglich-ove esterifikacije, sintetisana je prva grupa dibenzilovanih C-6 analoga od odabranih karboksilnih kiselina u visokim prinosima.

2. Steglich-ovom esterifikacijom u anh. DCM-u (DCC, DMAP, rt, 24h) preko intermedijernog alkohola **29** dobijeni su proizvodi: sa benzoevom kiselinom (**30**, 77%), sa cimetnom kiselinom (**31**, 81%), sa 4-fluorocimetnom kiselinom (**32**, 88%), 4-metoksicimetnom kiselinom (**33**, 81%) i sa 4-nitrocimetnom kiselinom (**34**, 80%).

Strukture sintetisanih analoga **30** – **34** poseduju dve benzilne grupe od kojih je na C-7 primarna benzil grupa i može se selektivno transformisati u acetilnu primenom odgovarajuće metode⁵¹ sa Ac₂O. Primenom „one pot“ procedure zamene Bn → Ac, sa FeCl₃ kao katalizatorom i anh. Et₂O kao rastvaračem na sobnoj temperaturi pri različitim reakcionim vremenima, dolazi do selektivne reakcije primarne benzilne grupe na C-7 uz dobijanje odgovarajućih 7-O-acetilovanih analoga u visokim prinosima.

3. Prethodno opisanom metodom su dobijena sledeća jedinjenja: **35** (24 h, 97%), **36** (48 h, 96%), **37** (30 h, 95%), **38** (48 h, 79%) i **39** (30 h, 83%).

Istraživanjem prethodno diskutovane reakcije, došlo se do saznanja da se selektivna zamena Bn → Ac, ipak može uraditi u DCM-u na sobnoj temperaturi, ali uz korišćenje slabije Lewis-ove kiseline Zn(OTf)₂ što je iskorišćeno u simultanoj sintezi finalnih 4,7-di-O-acetil C-6 supstituisanih analoga.

Naime, nakon što su nakon korišćenja $Zn(OTf)_2$ intermedijerno dobijena jedinjenja **35** – **39**, urađena je potom reakcija doacetilovanja ranije opisanom metodom ($FeCl_3$, Ac_2O) u anh. Et_2O pri čemu je dobijena nova grupa jedinjenja **40** – **44**.

4. Dobijena jedinjenja su kvantifikovana u sledećim finalnim prinosima: **40** (53%), **41** (65%), **42** (63%), **43** (28%) i **44** (55%).

Naredni korak je bila sinteza grupe 4,6-di-*O*-benzilovanih **47** i 6,7-di-*O*-acetilovanih analoga **45**, **47** i **48** prirodnoga proizvoda **1**.

5. Dibenzilni monol **29** je reakcijom sa ($FeCl_3$, Ac_2O , rt, 5 h) u anh. Et_2O preveden u 6,7-di-*O*-acetil mono benzilni analog **45** (87%). U prethodno pomenutoj reakciji su tri sintetička koraka (debenzilovanje-acetilovanje na C-7 i acetilovanje slobodne alkoholne grupe sa C-6) urađena kao „one pot“ procedura. Naredna reakcija kojom je intermedijerno jedinjenje **45** prevedeno u benzoilovani **46** (88%) uz korišćenje Bz_2O (DCM, $FeCl_3$, rt, 24 h) nije do ovoga rada nije bila literaturno poznata.
6. Reakcije sa anhidridima (Bz_2O i Ac_2O) i $FeCl_3$ kao katalizatorom su završene sintezom još dva nova bioizosterna analoga **47** i **48** iz polaznog tribenzilnog analoga **29**. Koliki je značaj upotrebljenog rastvarača za ovakav tip hemijskih reakcija, najbolje se vidi u procedurama dobijanja 4,6-di-*O*-benzilovanog **47** čiji prinos je više nego dupliran korišćenjem Et_2O (99%) umesto DCM (46%) kao rastvarača. Na kraju je sintetisan monol **48** (81%), koji može da posluži kao polazno jedinjenje za dalja istraživanja biološke aktivnosti grupe 6,7-di-*O*-acetilovanih analoga.

Za sintezu poslednjeg ciljnog molekula ove doktorske disertacije 5-*epi*-(-)-kleistenolida (**50**) iskorištena su dva intermedijerna jedinjenja **27** i **28** iz ranije pomenute sinteze 4,7-di-*O*-acetil C-6 supstituisanih analoga. Sinteza započinje ciklizacijom *cis*-olefina **27** (cat. TsOH, rt, DCM) pri čemu se dobija tribenzilni lakton **28** (96%) koji pri baznim hidrolitičkim uslovima sa (Et_3N , LiBr, aq. CH_3CN), daje intermedijernu kiselinu **28a**, koja nije izolovana, i dalje je tretirana u uslovima Mitsunobu-ove reakcije sa (Ph_3P , DEAD, rt, anh. $EtOAc$) pri čemu je dobijeno jedinjenje **49** u prinosu od 62%. Jedinjenje **49** poseduje potrebnu 5*R* konfiguraciju na C-5 je potom tretirano „one pot“ procedurom u DCM-u na sobnoj temperaturi, prvo sa smesom $Bz_2O/BzOH$ u prisustvu $FeCl_3$ kao katalizatorom i uz naknadno dodavanje $AcBr$. Pri prethodno navedenim reakcionim uslovima, dobijeno je finalno jedinjenje **50** u prinosu od 76%. Ciljni 5-*epi*-(-)-kleistenolid (**50**) je sintetizovan kroz osam sintetičkih faza sa finalnim prinosom od 34%, što je docnije i publikovano⁵³.

Nakon sinteze, ispitan je uticaj novosintetizovanih C-4, C-5 i C-6 analoga na proliferaciju jedanaest malignih i jedne normalne ćelijske linije. Većina novosintetizovanih analoga pokazuje visoku ili umerenu aktivnost prema ispitivanim ćelijskim linijama upoređujući sa komercijalno dostupnim citostatikom DOX. Na osnovu dobijenih rezultata, dolazi se do zaključka da su prema K562 ćelijskoj liniji novi analozi bili najaktivniji, sa IC_{50} vrednostima u intervalu od 0.10–11.00 μM . Aktivnost jedinjenja **38**, **29**, **50** i **31** je bila najizraženija prema K562 ćelijskoj liniji (IC_{50} vrednosti od 0.10 μM , 0.11 μM , 0.21 μM i 0.22 μM), gde su pomenuti derivati kleistenolida ispoljili jaču antiproliferativnu aktivnost u odnosu na DOX ($IC_{50} = 0.25 \mu\text{M}$). Prema ćelijskoj liniji HL 60, najaktivnije jedinjenje je bilo **31** ($IC_{50} = 0.51 \mu\text{M}$) koje je ispoljilo jaču aktivnost od DOX ($IC_{50} = 0.92 \mu\text{M}$). Jedinjenja **33** i **43** su pokazala visoku aktivnost prema Jurkat ćelijskoj liniji sa IC_{50} vrednostima od 0.09 μM i 1.89 μM . Sa aktivnostima od 0.38 μM , 0.94 μM , 1.05 μM i 2.47 μM jedinjenja **33**, **36**, **49** i **50** su pokazala bolju aktivnost od DOX (2.98 μM), a prema malignoj ćelijskoj liniji RAJI. Prema ćelijskoj liniji PC3 skoro sva sintetisana jedinjenja su imala bolju aktivnost od DOX, a jedinjenje **31** (1.21 μM) je pokazalo 70 puta bolju aktivnost od DOX (84.23 μM). Prema HT-29 generalno smo dobili umerene rezultate, a najaktivnija su bila jedinjenja **36** (6.88 μM) i **39** (13.17 μM). Prema ćelijskoj liniji MCF-7, jedinjenja **44**, **36** i **30** su pokazala visoku aktivnost sa IC_{50} vrednostima od 0.35 μM , 0.70 μM i 1.23 μM . Sa IC_{50} vrednostima od 2.08 μM , 4.21 μM i 4.29 μM jedinjenja **44**, **30** i **14** su pokazala dobru aktivost prema MDA-MB 231. Generalno je dobijena visoku aktivnost novosintetizovanih jedinjenja prema ćelijskoj liniji HeLa. Najbolji rezultat smo imali za jedinjenje **32** (0.04 μM) koje je bolje od DOX (0.07 μM), a potom slede **33** i **43** sa IC_{50} vrednostima od, 1.93 μM i 2.11 μM . Naša jedinjenja su pokazala umerenu ili slabu aktivnost prema malignoj ćelijskoj liniji Hs 294T. Za ćelijsku liniju A549 dobili smo jaku do umerenu aktivnost kod skoro svih novosintetizovanih jedinjenja, a čak 11 jedinjenja je bilo aktivnije od DOX (4.91 μM). Najbolju aktivnost ima jedinjenje **44** (0.11 μM) koja je 45 puta bolja od DOX, a slede ga **31** i **42** sa IC_{50} vrednostima 1.19 μM i 1.39 μM . Samo nekoliko novosintetizovanih analoga pokazalo je minimalnu aktivnost prema normalnim MRC-5 ćelijama.

Pored antiproliferativne aktivnosti ispitana je i antimikrobna aktivnost odabranih novosintetizovanih analoga (–)kleistenolida (**1**). Antimikrobnu aktivnost ispitivana korišćenjem standardnog testa difuzije diska protiv panela mikroorganizama: Gram pozitivne bakterije *S. aureus* NCTC 6571 i *L. monocytogenes* NCTC 11994, Gram negativne bakterije - *P. aeruginosa* ATCC 10332 i *K. pneumoniae* ATCC BAA 2146, i gljivica *C. albicans* ATCC 10231. Jedinjenja **40** i **46** su ispoljila specifičnost protiv gram pozitivne bakterije *S. aureus*, sa blagom aktivnošću na rast.

6 SUMMARY

In this work, a new, multiphase synthesis of the natural lactone (–)-cleistenolide (**1**) and its corresponding C-4, C-5 and C-6 analogues was achieved as follows:

1. Economical and commercially available 1,2:5,6-di-*O*-isopropylidene- α -D-glucofuranose (**2**) was used as a suitable starting compound, which was first treated with BnBr and NaH (0 °C, 0.5 h → rt, 2 h) in anhydrous DMF to give benzylated compound **3** (97%).
2. Hydrolytic (aq 60% AcOH, rt) removal of the terminal isopropylidene group from compound **3** gives the intermediate diol **4** which is used for the next step in crude state. The next two synthetic phases were performed using the „one pot“ procedure. Namely, crude **4** was dissolved in anhydrous DCM and successively treated with BzCl and AcCl in the presence of DMAP as a base at room temperature, whereby the corresponding ester **6** was obtained in a yield of 83% based on starting compound **3**.
3. The next three synthetic steps were performed without isolating the intermediates. The procedure begins with the hydrolytic removal of the isopropylidene protecting group by the action of 90% aq TFA in DCM (0.5 h → rt 2.5 h) to give the intermediate lactol **7**. The crude compound **7** was then treated with H₅IO₆ in aq 50% EtOAc (0.5 h → rt 3.5 h) which leads to the formation of the intermediate aldehyde **7b**, which during the *Z*-selective Wittig reaction with Ph₃P=CH₂CO₂Me (MCMP) in anhydrous MeOH at room temperature gives the *Z*-olefin **8** in a yield of 52% based on the starting ester **6**.
4. Acyclic olefin **8**, by the effect of catalytic amounts of *p*-TSA×H₂O in anhydrous DCM at room temperature for 48 h, gives the expected 6-membered lactone **9** (90%) with the corresponding 5,6-dihydro-pyran-2-one structure.
5. The final synthetic stages involve the transformation of the benzylic intermediate **9** into (–)-cleistenolide (**1**) and the alcoholic compound **10**, which will also serve to obtain the C-4 analogue, which were performed as follows. Lactone **9**, was treated with TiCl₄ in anhydrous DCM (rt, 24 h) whereby the 4-*O*-benzylether protection was removed to give the corresponding secondary alcohol **10** (77%). The final synthetic step was carried out by esterification of compound **10** with Ac₂O, in the presence of a catalytic amount of *p*-TSA×H₂O, at room temperature for 4 h, giving the natural product (–)-cleistenolide **1** (95%) and a final yield of 17.4% from nine synthetic phases.
6. The „one pot“ method was then used for deprotection and successive acetylation of intermediate **9**, which obtained the final compound **1** in high yield without using compound

10 as an intermediate. Namely, benzylic intermediate **9** was directly converted into (–)-cleistenolide (**1**) using Lewis acids (FeCl_3 or $\text{Zn}(\text{OTf})_2$) and AcBr at room temperature in high yields of 81% and 94%, respectively. The natural product **1** was obtained in eight synthetic phases with the aforementioned modification and a final yield of 31% and 35%, which doubled the final yield of **1** compared to the previously published work⁴⁶ (17.4% from nine synthetic phases).

After the total synthesis of (–)-cleistenolide **1**, it was synthesized as a group of analogues with selected pharmacophores at the C-4 position using compounds **9** and **10**. Namely, the benzyl analogue **9** can be directly converted into the corresponding C-4 analogues **1** by reaction with selected acyl halides in the presence of Lewis acids as a catalyst, while the alcoholic compound **10** can be directly esterified or etherified using selected chemical methods.

1. The first two reactions from starting compound **9** with 2,4,6-trichlorobenzoyl chloride and 3-*O*-methoxybenzoyl chloride in anh. DCM (FeCl_3 , rt, 24 h) gave the expected C-4 analogues **11** and **12** (44% and 79%, respectively). However, the reaction with *p*-toluenesulfonyl chloride proceeded unexpectedly, resulting in debenylation and spontaneous C-6→C-4 acyl migration of the acetyl group with the formation of C-6 monol **13** (49%).
2. A new group of cinnamate C-4 analogues was obtained by Steglich⁴⁷ esterification in anh. DCM (DCC, DMAP, rt, 4h) to intermediate alcohol **10** with cinnamic acid (**14**, 82%) and its derivatives 4-fluorocinnamic acid (**15**, 74%), 4-methoxycinnamic acid (**16**, 87%), 4-nitrocinnamic acid (**17**, 62%) and 3,4-di-methoxycinnamic acid (**18**, 75%).
3. Esterifications with sulfonyl chlorides (MsCl and TsCl) were carried out in anh. to DCM (DMAP, rt, 1h) giving the corresponding esters **19** (87%) and **20** (81%) in high yields.
4. A group of silylated C-4 analogues was obtained with appropriate reagents (TBSOTf and TBDPSCl) on the intermediate alcohol **10** using pyridine for TBSOTf and using a more efficient silylation method⁴⁹ for TBDPSCl with *N*-methyl imidazole and iodine as a catalyst. Under these reaction conditions, the desired silyl C-4 analogues **21** and **22** are obtained in high yields (87% and 63%, respectively).
5. At the end of plans related to the synthesis of C-4 analogues, it was synthesized as another diphenyl acetic and chloride analogue of natural compound **1**. Analogue **23** was obtained in a high yield of 91% using the already mentioned Steglich esterification, in contrast to the corresponding halide **24** which was obtained in a modest 25% yield using the Appel⁵⁰ reaction.

For the synthesis of the key intermediate **29**, which was needed to obtain in larger quantities to obtain the C-6 analogue of (–)-cleistenolide **1**, it was modified our previously published synthesis¹³ from 1,2:5,6-di-*O*-Isopropylidene- α -D-glucofuranoses (**2**) in the sense of massive use of methods of combined synthetic phases and „*one pot*“ procedures as follows:

1. Chemical transformations of compound **2** into the key intermediate **29** began with combined synthetic phases in which the terminal isopropylidene protection is first hydrolytically removed with aq 60% AcOH, and the intermediate triol **2a** was then totally benzylated by the action of NaH and BnBr in anh. DMF, giving intermediate tri-benzyl **25**. Under acid hydrolysis conditions with 50% aq TFA in DCM, **25** was converted to lactol **26** which was used without purification in the next reaction. Wittig's reaction is done „*one pot*“ in abs. MeOH, whereby lactol **26** was first oxidized by periodic oxidation (NaIO₄) to intermediate aldehyde **26a** which then reacts with Ph₃P=CHCO₂Me to obtain acyclic *Z*-olefin **27** in a high yield of 75%. Cyclization of olefin **27** with *p*-TsOH in DCM afforded the corresponding lactone **28** (96%). Treatment of **28** with FeCl₃ and cc AcOH in DCM afforded the target secondary monol **29** (63%).

Using Steglich's esterification, the first group of dibenzylated C-6 analogs from selected carboxylic acids was synthesized in high yields.

2. Steglich's esterification in anh DCM (DCC, DMAP, rt, 24h) via the intermediate alcohol **29** gave the following products: with benzoic acid (**30**, 77%), with cinnamic acid (**31**, 81%), with 4-fluorocinnamic acid (**32**, 88%), 4-methoxycinnamic acid (**33**, 81%) and with 4-nitrocinnamic acid (**34**, 80%).

The structures of the synthesized analogues **30** – **34** have two benzyl groups, of which the primary one is at C-7 and can be selectively transformed into acetyl by applying the appropriate literature method⁵¹ with Ac₂O. By applying the „*one pot*“ replacement procedure Bn → Ac, with FeCl₃ as a catalyst and anh. with Et₂O as a solvent at room temperature at different reaction times, there is a selective reaction of the primary benzyl group at C-7 with obtaining the corresponding 7-*O*-acetylated analogues in high yields.

3. The following compounds were obtained by the previously described method: **35** (24 h, 97%), **36** (48 h, 96%), **37** (30 h, 95%), **38** (48 h, 79%) and **39** (30 h, 83%).

By researching the previously discussed reaction, it was found out that the selective replacement Bn → Ac can still be done in DCM at room temperature, but with the use of a weaker Lewis acid Zn(OTf)₂, which we used in the simultaneous synthesis of the final 4,7-di-*O*-acetyl C-6 substituted analogues. Namely, after using Zn(OTf)₂ as an intermediate, compounds **35** – **39** were obtained,

then the doacetylation reaction was performed using the previously described method (FeCl₃, Ac₂O) in anh. Et₂O, whereby a new group of compounds **40** – **44** were obtained.

4. The obtained compounds were quantified in the following final yields: **40** (53%), **41** (65%), **42** (63%), **43** (28%) and **44** (55%).

The next step was the synthesis of a group of 4,6-di-*O*-benzylated **47** and 6,7-di-*O*-acetylated analogues **45**, **47** and **48** of natural product **1**.

5. Dibenzyl monol **29** was reacted with (FeCl₃, Ac₂O, rt, 5 h) in anh. Et₂O converted to 6,7-di-*O*-acetyl mono benzyl analogue **45** (87%). In the aforementioned reaction, three synthetic steps (debenzylation-acetylation at *C*-7 and acetylation of the free alcohol group at *C*-6) were performed as a „one pot“ procedure. The subsequent reaction by which intermediate **45** was converted to benzoylated **46** (88%) using Bz₂O (DCM, FeCl₃, rt, 24 h) was not known in the literature until this work.
6. Reactions with anhydrides (Bz₂O and Ac₂O) and FeCl₃ as a catalyst were completed with the synthesis of two new bioisosteric analogues **47** and **48** from the starting tribenzyl analogue **29**. The importance of the used solvent for this type of chemical reaction can best be seen in the procedures for obtaining 4,6-di-*O*-benzylated **47** whose yield was more than doubled using Et₂O (99%) instead of DCM (46%) as solvent. Finally, monol **48** (81%) was synthesized, which can serve as a starting compound for further research into the biological activity of the group of 6,7-di-*O*-acetylated analogues.

For the synthesis of the last target molecule of this doctoral dissertation, 5-*epi*-(-)-kleistenolide (**50**), two intermediate compounds **27** and **28** from the previously mentioned synthesis of 4,7-di-*O*-acetyl *C*-6 substituted analogs were used. The synthesis begins with the cyclization of *cis*-olefin **27** (cat. TsOH, rt, DCM), whereby tribenzyl lactone **28** (96%) is obtained, which under basic hydrolytic conditions with (Et₃N, LiBr, aq. CH₃CN) gives intermediate acid **28a**, which is not isolated, it was further treated under Mitsunobu reaction conditions with (Ph₃P, DEAD, rt, anh. EtOAc) to give compound **49** in 62% yield. Compound **49** possessing the required 5*R* configuration at *C*-5 was then treated by a one-pot procedure in DCM at room temperature, first with a mixture of Bz₂O/BzOH in the presence of FeCl₃ as catalyst and with subsequent addition of AcBr. Under the aforementioned reaction conditions, the final compound **50** was obtained in a yield of 76%. The target 5-*epi*-(-)-cleistenolide (**50**) was synthesized through eight synthetic steps with a final yield of 34%, which was later published.⁵³

After synthesis, the influence of newly synthesized *C*-4, *C*-5 and *C*-6 analogues on the proliferation of eleven malignant and one normal cell line was investigated. Most of the newly synthesized

analogs show high or moderate activity against the tested cell lines compared to the commercially available cytostatic DOX. Based on the obtained results, it is concluded that the new analogues were the most active against the K562 cell line, with IC_{50} values in the range of 0.10–11.00 μM . The activity of compounds **38**, **29**, **50** and **31** was most pronounced against the K562 cell line (IC_{50} values of 0.10 μM , 0.11 μM , 0.21 μM and 0.22 μM), where the mentioned cleistenolide derivatives exhibited stronger antiproliferative activity compared to DOX ($IC_{50} = 0.25 \mu\text{M}$). According to the HL 60 cell line, the most active compound was **31** ($IC_{50} = 0.51 \mu\text{M}$), which exhibited stronger activity than DOX ($IC_{50} = 0.92 \mu\text{M}$). Compounds **33** and **43** showed high activity against the Jurkat cell line with IC_{50} values of 0.09 μM and 1.89 μM . With activities of 0.38 μM , 0.94 μM , 1.05 μM and 2.47 μM compounds **33**, **36**, **49** and **50** showed better activity than DOX (2.98 μM) and against the malignant cell line RAJI. According to the PC3 cell line, almost all synthesized compounds had better activity than DOX, and compound **31** (1.21 μM) showed 70 times better activity than DOX (84.23 μM). According to HT-29, we generally obtained moderate results, and the most active compounds were **36** (6.88 μM) and **39** (13.17 μM). Against the MCF-7 cell line, compounds **44**, **36** and **30** showed high activity with IC_{50} values of 0.35 μM , 0.70 μM and 1.23 μM . With IC_{50} values of 2.08 μM , 4.21 μM and 4.29 μM compounds **44**, **30** and **14** showed good activity against MDA-MB 231. In general, we obtained high activity of our newly synthesized compounds against HeLa cell line. We had the best result for compound **32** (0.04 μM) which is better than DOX (0.07 μM), followed by **33** and **43** with IC_{50} values of 1.93 μM and 2.11 μM . Our compounds showed moderate to weak activity against the malignant cell line Hs 294T. For the A549 cell line, we obtained strong to moderate activity with almost all newly synthesized compounds, and even 11 compounds were more active than DOX (4.91 μM). The best activity is the compound **44** (0.11 μM), which is 45 times better than DOX, followed by **31** and **42** with IC_{50} values of 1.19 μM and 1.39 μM . Only a few newly synthesized analogs showed minimal activity against normal MRC-5 cells.

In addition to the antiproliferative activity, the antimicrobial activity of selected newly synthesized analogues of (–)-cleistenolide (**1**) was tested. Antimicrobial activity was tested using a standard disc diffusion test against a panel of microorganisms: Gram-positive bacteria *S. aureus* NCTC 6571 and *L. monocytogenes* NCTC 11994, Gram-negative bacteria - *P. aeruginosa* ATCC 10332 and *K. pneumoniae* ATCC BAA 2146, and the fungus *C. albicans* ATCC 10231. Compounds **40** and **46** exhibited specificity against the gram-positive bacterium *S. aureus*, with slight growth activity.

7 SKRAĆENICE

Ac	acetil
Anh.	anhidrovani
aq	vodeni rastvor
Bn	benzil
CSA	kamforsumporna kiselina
DBU	1,8-diazabiciklo[5.4.0.]undec-7-en
DCM	dihlorometan
DDQ	2,3-dihloro-5,6-dicijano-1,4-benzohinon
DEAD	dietilazodikarboksilat
DIBALH	diizobutilaluminijum hidrid
DIPEA	<i>N,N</i> -diizopropiletilamin
DMAP	4-(<i>N,N</i> -dimetilamino)piridin
DMF	<i>N,N</i> -dimetilformamid
ECMP	(etoksikarbonilmetilen)trifenilfosforan
Et	etil
HWE	Horner-Wadsworth-Emmons-ova reakcija
IBX	2-jodoksibenzojeva kiselina
L-(+)-DET	(+)-dietil L-tartarat
LAH	litijumaluminijumhidrid
MCMP	(metoksikarbonilmetilen)trifenilfosforan
Me	metil
MOM	metoksimetil
NMO	<i>N</i> -metilmorfolin <i>N</i> -oksid
PCC	piridinijum-hlorohromat
PE	petroletar (frakcija 40–65 °C)
Ph	fenil
PMB	4-metoksibenzil
<i>p</i> -TSA	<i>para</i> -toluensulfonska kiselina
Py	piridin
rt	sobna temperatura

TBAF	tetra- <i>n</i> -butilamonijum fluorid
TBAI	tetra- <i>n</i> -butilamonijum jodid
TBDPS	terc-butildifenilsilil
TBS	<i>terc</i> -butildimetilsilil
TCBC	2,4,6-trihlorobenzoil hlorid
TFA	trifluorsirćetna kiselina
THF	tetrahidrofuran
TLC	tankoslojna hromatografija
tt	temperatura topljenja

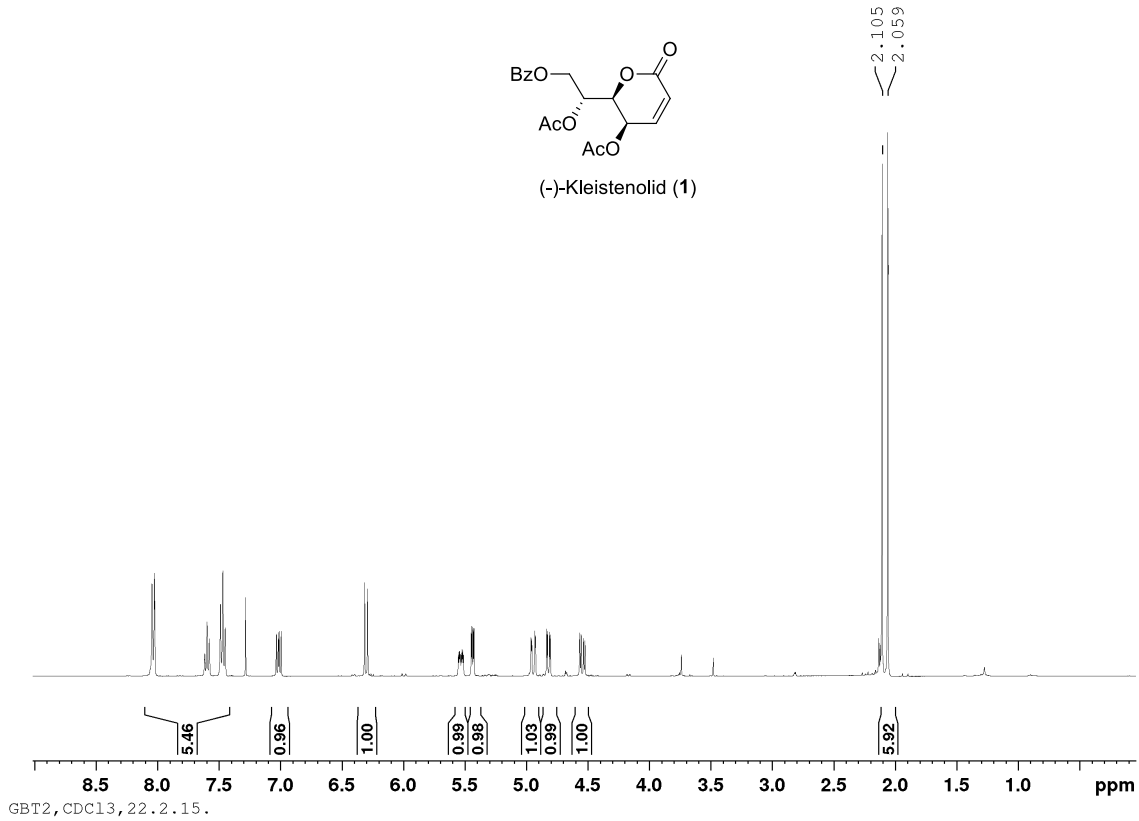
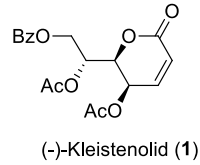
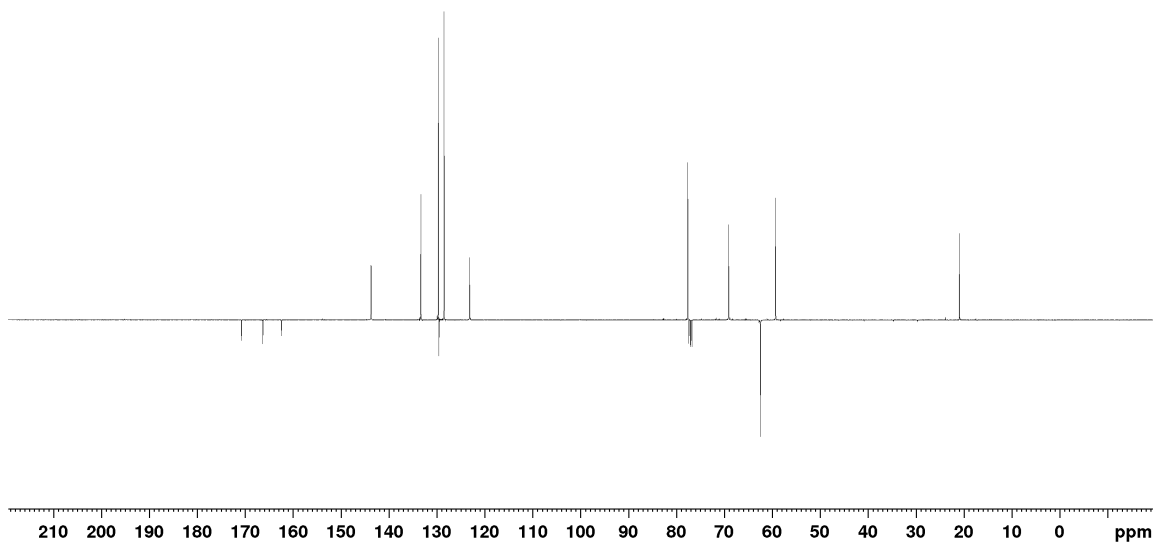
8 LITERATURA

1. Verzár, R.; Petri G. *J. Ethnopharmacol.* **1987**, *19*, 67.
2. Nkunya, M. H. H. *Pure Appl. Chem.* **2005**, *77*, 1943.
3. Samwel, S.; Mdachi, S. J. M.; Nkunya, M. H. H.; Irungu, B. N.; Moshi, M. J.; Moulton, B.; Luisi, B. *Nat. Prod. Commun.* **2007**, *2*, 2.
4. Hanessian, S. *Total Synthesis of Natural Products: The Chiron Approach*; Pergamon Press, Oxford, **1983**.
5. Schmidt, B.; Kunz, O.; Biernat, A. *J. Org. Chem.* **2010**, *75*, 2389.
6. Cai, C.; Liu, J.; Du, Y.; Linhardt, R. *J. Org. Chem.* **2010**, *75*, 5754.
7. Ramesh, P.; Meshram, H. M. *Tetrahedron Lett.* **2011**, *52*, 2443.
8. Reddy, B. V. S.; Reddy, B. P.; Pandurangam, T.; Yadav, J. S. *Tetrahedron Lett.* **2011**, *52*, 2306.
9. Babu, D. C.; Selavam, J. J. P.; Reddy, D. K.; Shekhar, V.; Venkateswarlu, Y. *Tetrahedron.* **2011**, *67*, 3815.
10. Babu, D. C.; Ashalatha, K., Rao, C. B.; Jondoss, J. P. S.; Venkateswarlu, Y. *Helv. Chim. Acta.* **2011**, *94*, 2215.
11. Kumar, T. V.; Babu, K. S.; Rao, J. M. *Tetrahedron Lett.* **2012**, *53*, 1823.
12. Ghogare, R. S.; Wadavrao, S. B.; Narsaiah, A. V. *Tetrahedron Lett.* **2013**, *54*, 5674.
13. Benedeković, G.; Kovačević, I.; Popsavin, M.; Francuz, J.; Kojić, V.; Bogdanović, G.; Popsavin, V. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2016**, *26*, 3318.
14. Reddy, A. B.; Swamy, B. K.; Yadav J. S. *Tetrahedron Asymmetry* **2016**, *27*, 788.
15. Benedeković, G.; Popsavin, M.; Kovačević, I.; Kojić, V.; Rodić, M.; Popsavin, V. *European Journal of Medicinal Chemistry.* **2020**, *202*, 112597.
16. Mahajan, P. S.; Gonnade, R. G.; Mhaske, S. G. *Eur. J. Org. Chem.* **2014**, 8049.
17. Pereira, F.; Madureira, A. M.; Sancha, S.; Mulhovo, S.; Luo X.; Duarte, A.; Ferreira, M-J. U. *J. Ethnopharm.* **2016**, *178*, 180.
18. Muslim, A.; Nazar, M.; Majed, A. A.; Rihab, A.H. H.; Hanan, S. A. A. *Toxicology Lett.* **1989**, *48*, 235.
19. Morre, D. J.; de Cabo, R., Farley, C.; Oberlies, N. H.; McLaughlin, J. L. *Life Sci.* **1995**, *56*, 343.
20. Wolvetang, E. J.; Johnson, K. L.; Krauer, K., Ralph, S. J.; Linnane, A. W. *FEBS Lett.* **1994**, *339*, 40.

21. Oberlies, N. H.; Jones, J. L.; Corbett, T. H.; Fotopoulos, S. S.; McLaughlin, J. L. *Cancer Lett.* **1995**, *96*, 55.
22. Jung, J. H.; Chang, C.-J.; Smith, D. L.; McLaughlin, J. L.; Pummangura, S.; Chaichantipyuth, C.; Patarapanich C. *J. Nat. Prod.* **1991**, *54*, 505.
23. Saadawi, S.; Jalil, J.; Jasamai, M.; Jantan I. *Molecules.* **2012**, *17*, 4824.
24. Nyasse, B.; Ngantchou, I.; Nono, J.-J.; Schneider, B. *Natural Product Research*, **2006**, *20*, 391.
25. Schmidt, B.; Nave, S. *Adv. Synth. Catal.* **2007**, *349*, 215.
26. Wiggins, L. F. J. *Chem. Soc.* **1946**, 13.
27. Xu, Y.; Prestwich, G. D. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 7158.
28. Abushanab, E.; Vemishetti, P.; Leiby, R. W.; Singh, H. K.; Mikkilineni, A. B.; Wu, D. C. J.; Saibaba, R.; Panzica, R. P. *J. Org. Chem.* **1988**, *53*, 2598.
29. Takano, S.; Kurotaki, A.; Takahashi, M.; Ogasawara, K. *Synthesis* **1986**, 403.
30. Corey, E. J.; Cheng, X.-M. *The Logic of Chemical Synthesis*, Wiley: New York, **1989**.
31. Valverde, S.; Martin-Lomas, M.; Herradon, B.; Garcia-Ochoa, S. *Tetrahedron.* **1987**, *43*, 1895.
32. Tronchet, J. M. J.; Gentile, B., *Helvetica Chimica Acta.* **1979**, *62*, 2091.
33. Byrne, P. A.; Gilheany, D. G. *Chem. Soc. Rev.* **2013**, *42*, 6670.
34. Kayser, M. H.; Hooper, D. L. *Can. J. Chem.* **1990**, *68*, 2123.
35. Robiette, R.; Richardson, J.; Aggarwal, V. K.; Harvey, J. N. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 13468.
36. Scudiero, D. A.; Shoemaker, R. H.; Paull, K. D.; Monks, A.; Tierney, S.; Nofziger, T. H.; Currens, M. J.; Seniff, D.; Boyd, M. R. *Cancer. Res.* **1988**, *48*, 4827.
37. Bešker, A. Z., Master rad, "Sinteza i antiproliferativna aktivnost (-)-kleistenolida i njegovih novih derivata", PMF, Novi Sad, **2017**.
38. Lichtenthaler, F. W.; Kläres, U.; Szurmai, Z.; Werner, B. *Carbohydr. Res.*, **1998**, *305*, 293.
39. Meyer, A. S.; Reichstein, T. *Helv. Chim. Acta.* **1946**, *29*, 152.
40. Mancuso, A. J.; Swern, D. *Synthesis.* **1981**, *3*, 165.
41. Omura, K.; Swern, D. *Tetrahedron.* **1978**, *34*, 1651.
42. Hori, H.; Nishida, Y.; Ohru, H.; Meguro, H. *The Journal of Organic Chemistry.* **1989**, *54*(6), 1346.
43. Valverde, S.; Martin-Lomas, M.; Herradon, B.; Garcia-Ochoa, S. *Tetrahedron.* **1987**, *43*, 1895.
44. Tronchet, J. M. J.; Gentile, B., *Helvetica Chimica Acta.* **1979**, *62*, 2091.

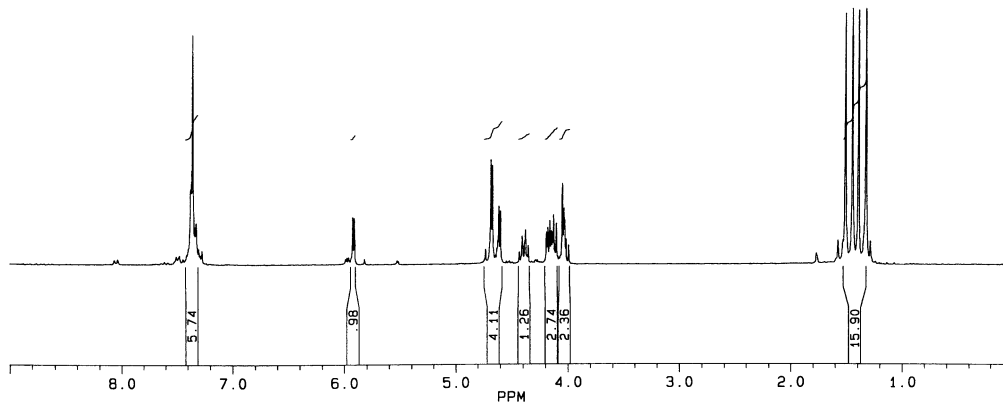
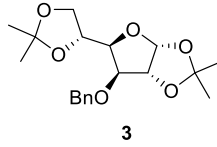
45. Liu, J.; Liu, Y.; Zhang, X.; Zhang, C.; Gao, Y.; Wang, L.; Du, Y. *Journal of Organic Chemistry*, **2012**, *77*, 9718.
46. Benedeković, G.; Popsavin, M.; Radulović, N. S.; Stojanović-Radić, Z.; Farkas, S.; Francuz, J.; Popsavin, V. *Bioorganic Chemistry*. **2021**, *106*, 104491.
47. Neises, B.; Steglich, W. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1978**, *17*, 522.
48. Ruwizhi, N.; Aderibigbe, B.A. *Int. J. Mol. Sci.* **2020**, *21*(16), 5712.
49. Bartoszewicz, A.; Kalek, M.; Nilsson, J.; Hiresova, R.; Stawinski, J. *Synlett*, **2007**, *1*, 37.
50. Appel, R. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1975**, *14*, 801.
51. Alexakis, A.; Gardette, M.; Colin, S. *Tetrahedron Lett.* **1988**, *29*, 2951.
52. Benedeković, G.; Popsavin, M.; Kovačević, I.; Kojić, V.; Kesić, J.; Farkas, S.; Popsavin, V. *Tetrahedron*. **2021**, *96*, 132385.
53. Farkas, S.; Benedeković, G.; Stanisavljević, S. M.; Srećo Zelenović, B. M.; Popsavin, M.; Popsavin, V. Jakimov, D. *J. Serb. Chem. Soc.* **2023**.

9 PRILOG

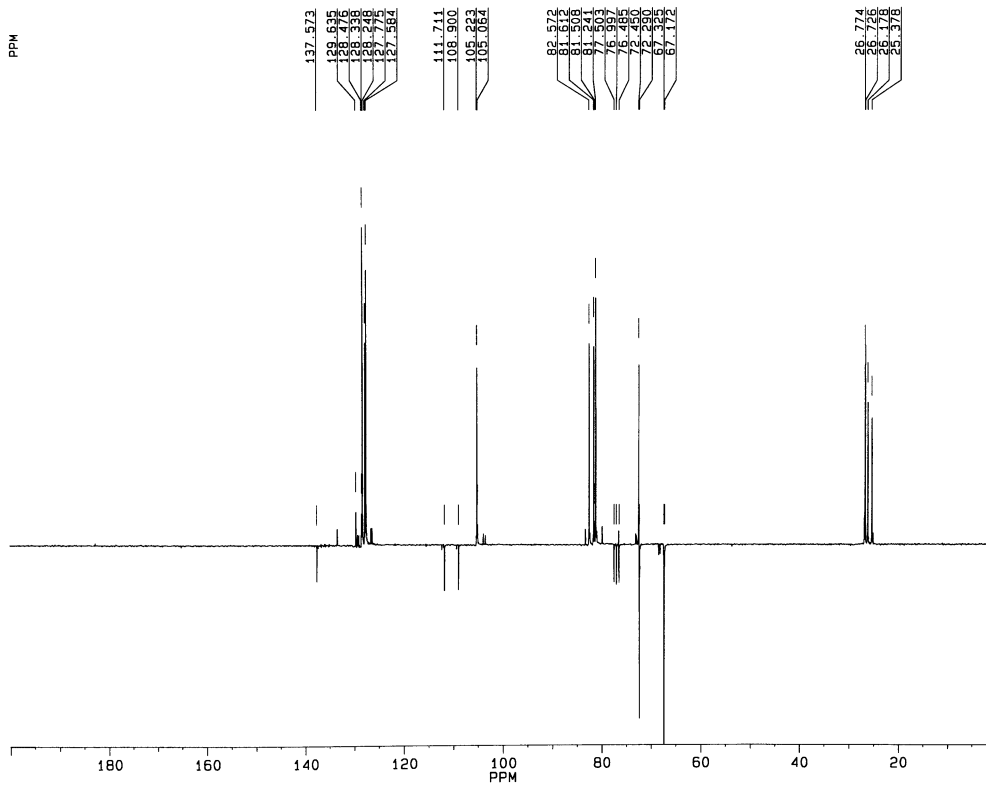
^1H i ^{13}C NMR Spektri jedinjenja (-)-kleistenolida (1) (CDCl_3)GBT2C, CDCl_3 , 9.2.15. GORANGBT2, CDCl_3 , 22.2.15.

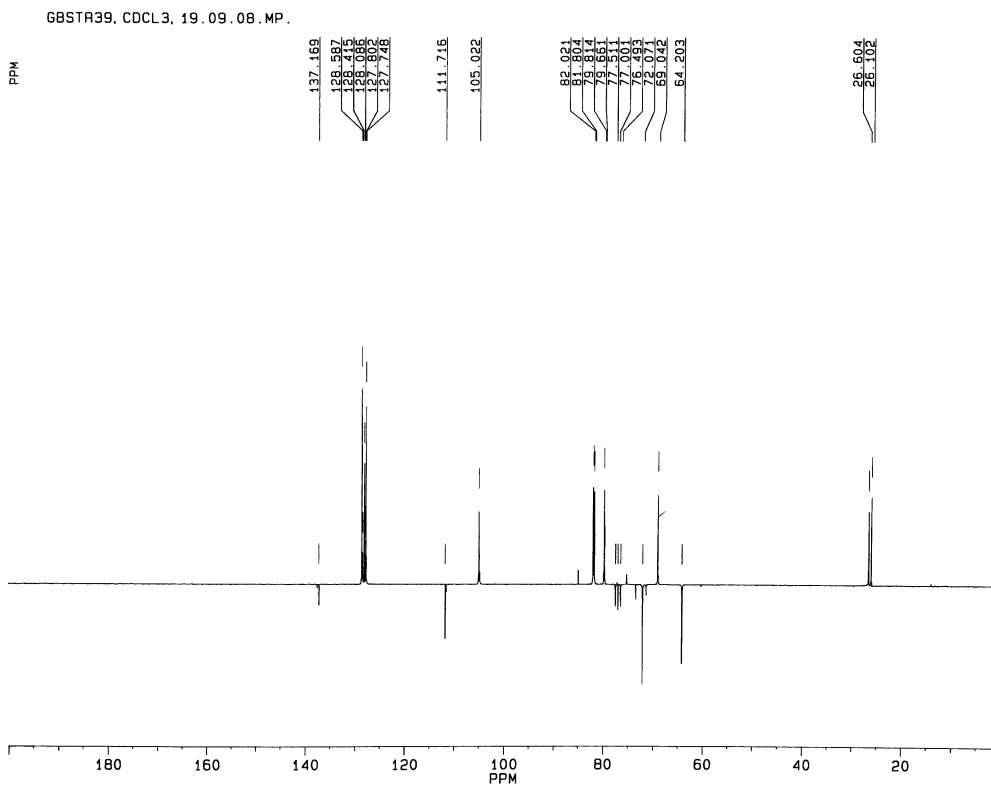
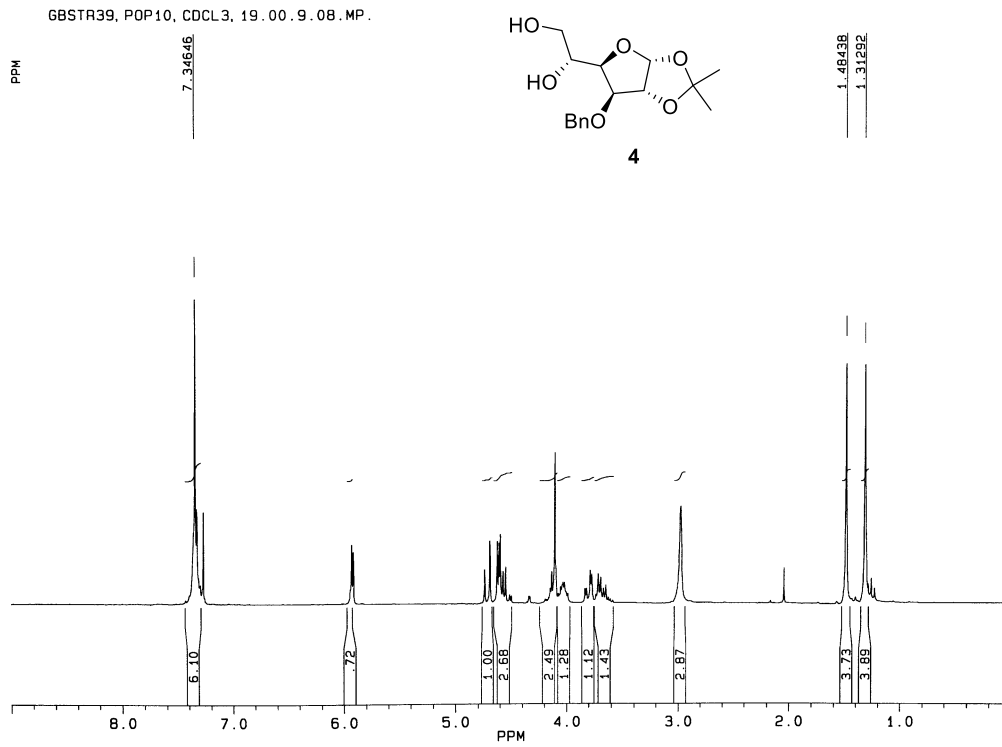
^1H i ^{13}C NMR Spektri jedinjenja 3 (CDCl_3)VP3BN-DIIZOPROPILIDENGLUKOZA, CDCl_3 , 1.08.07.MP.

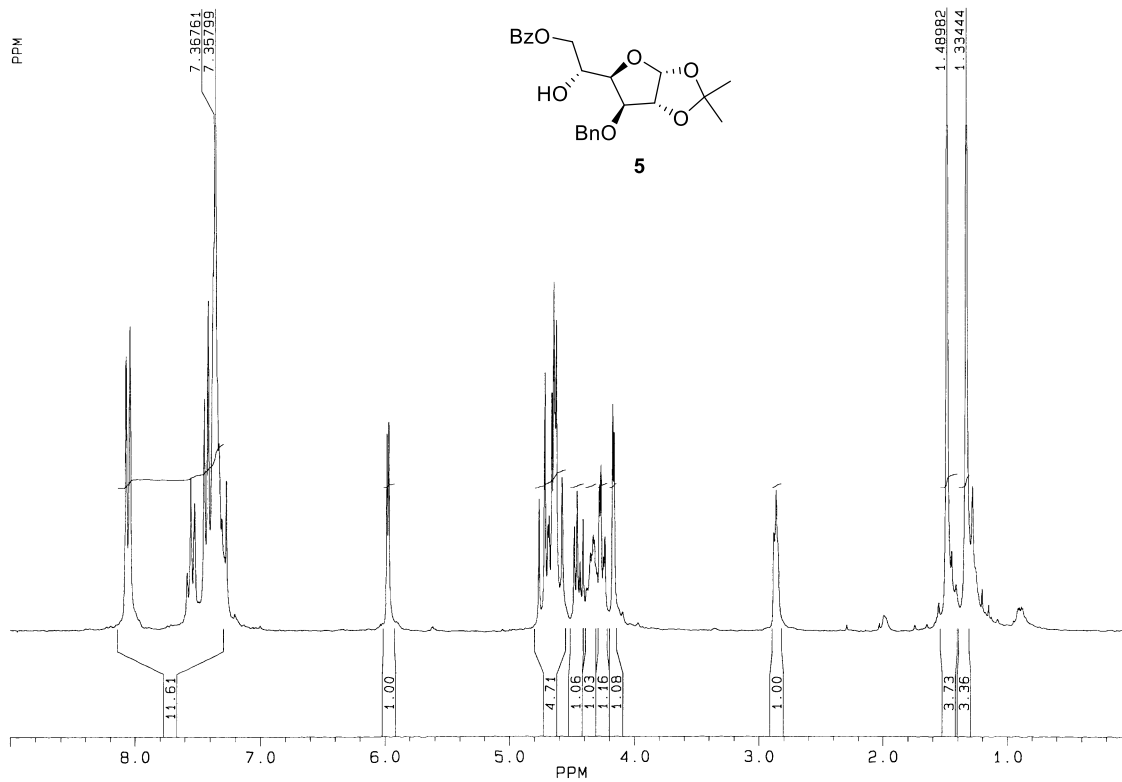
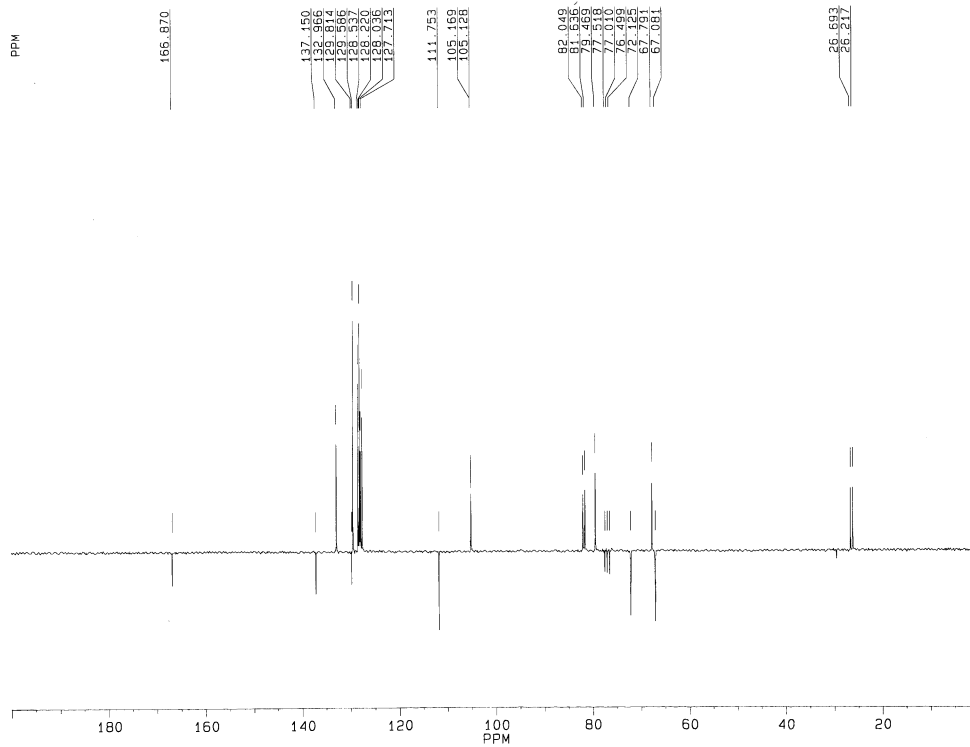
PPM

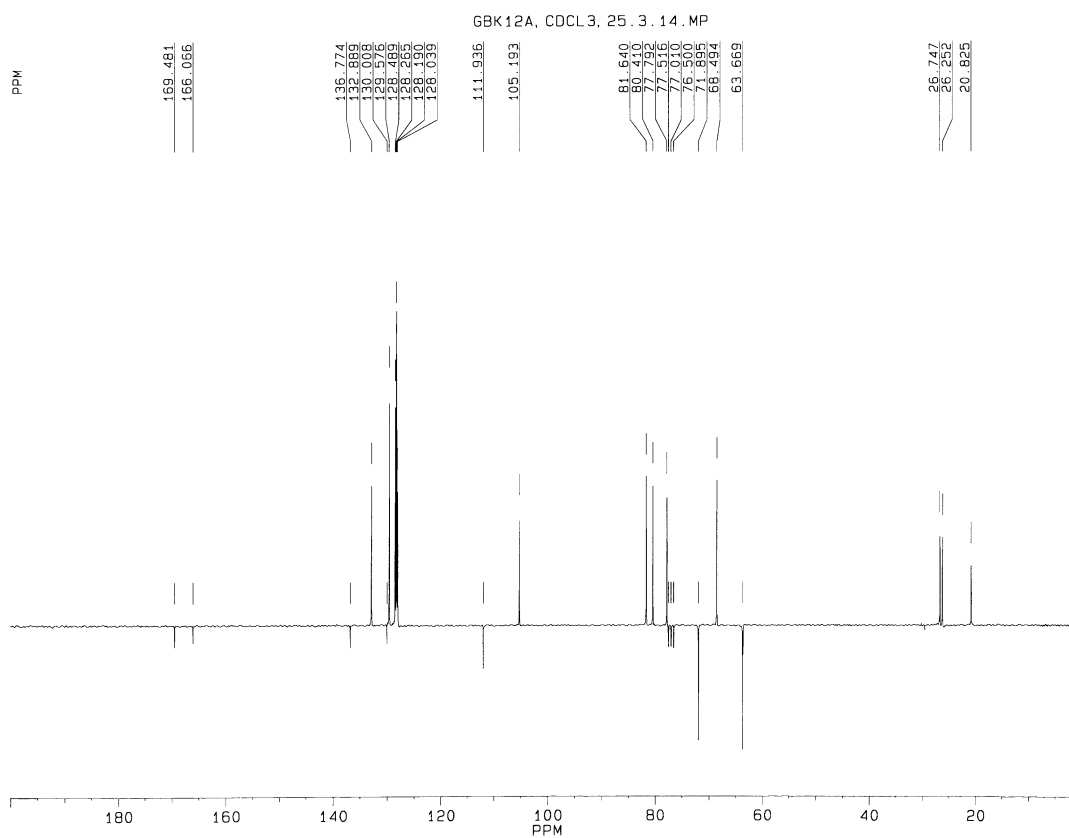
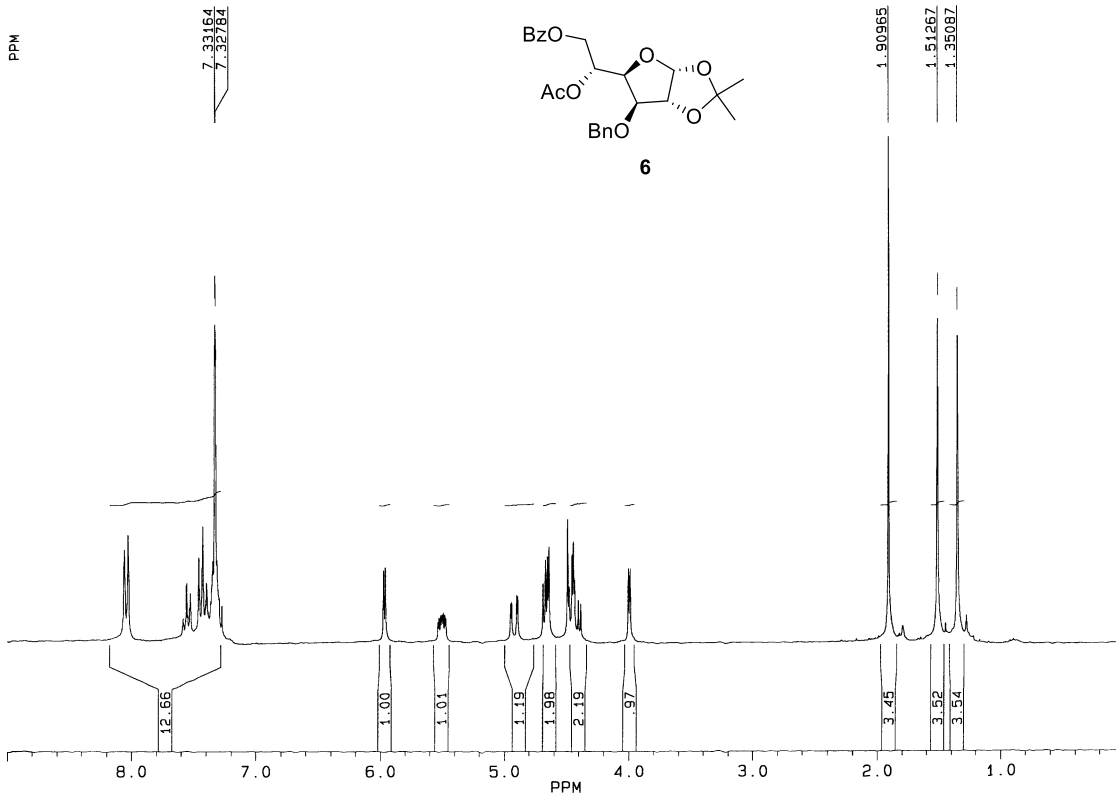


PPM



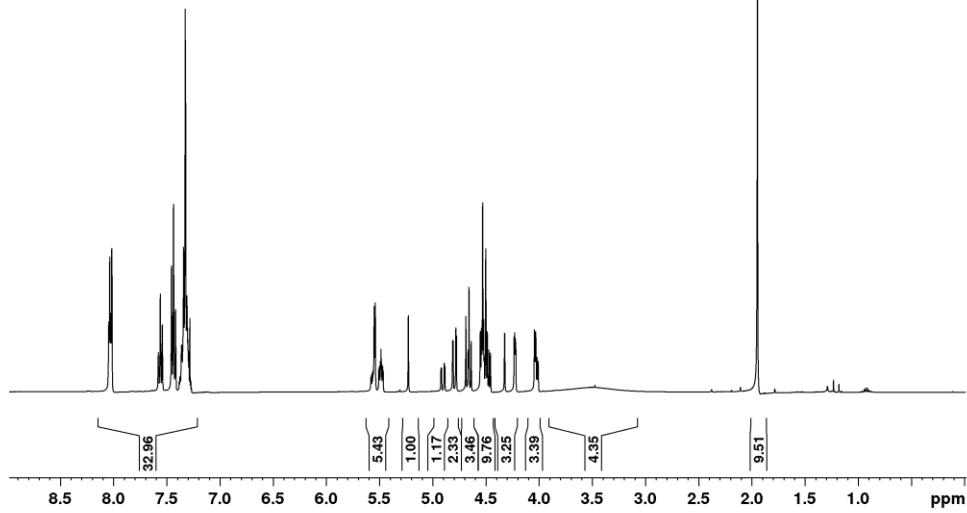
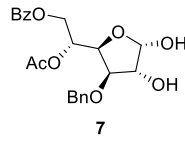
^1H i ^{13}C NMR Spektri jedinjenja 4 (CDCl_3)

^1H i ^{13}C NMR Spektri jedinjenja 5 (CDCl_3)GBSTR13, CDCl_3 , 25. 2. 14. MPGBSTR13, GBK11, CDCl_3 , 25. 2. 14. MP

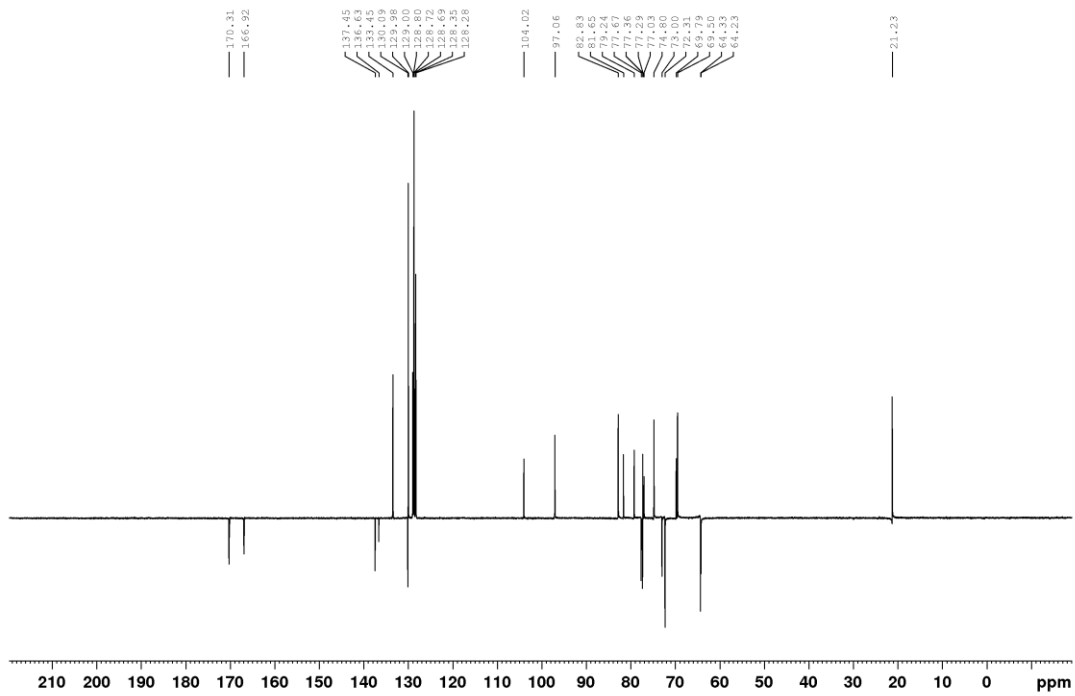
^1H i ^{13}C NMR Spektri jedinjenja 6 (CDCl_3)GBK12A, CDCl_3 , 25.3.14.MP

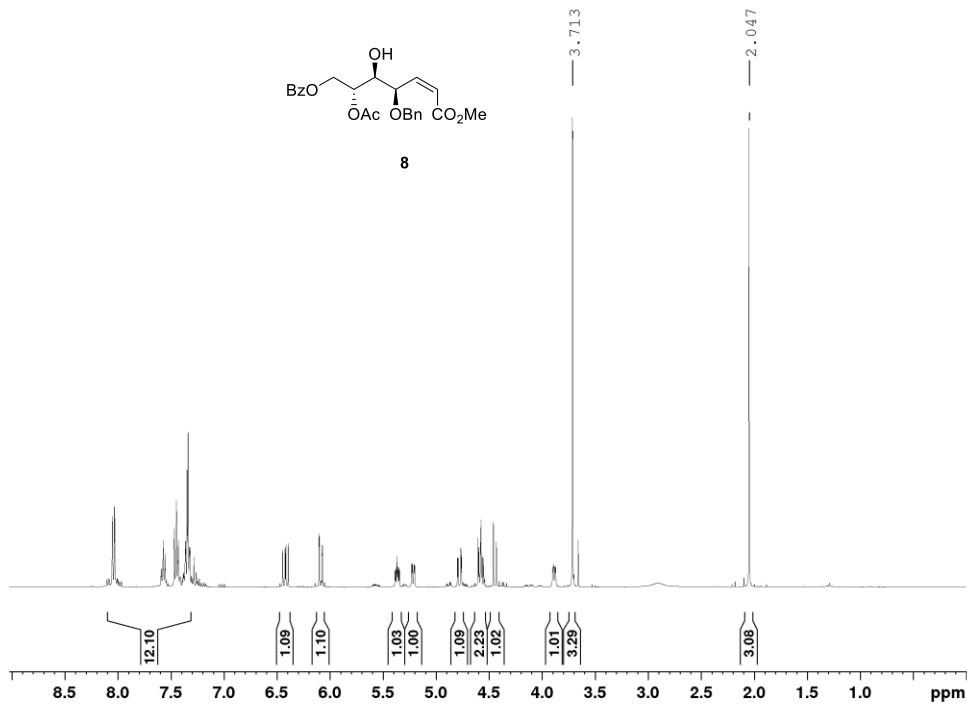
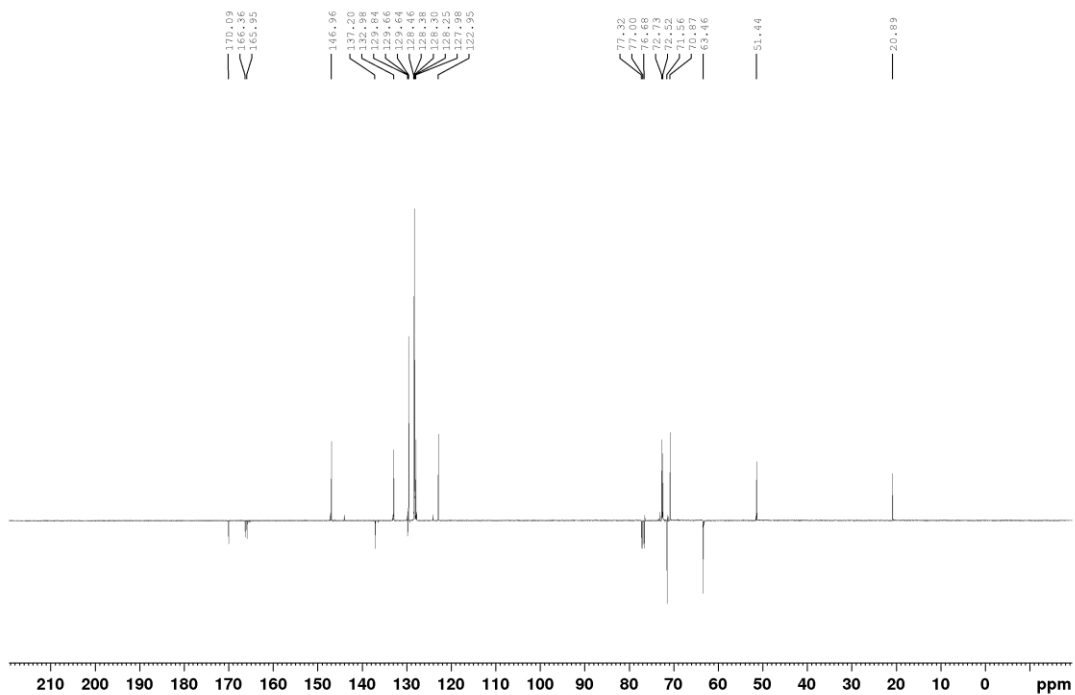
^1H i ^{13}C NMR Spektri jedinjenja 7 (CDCl_3)

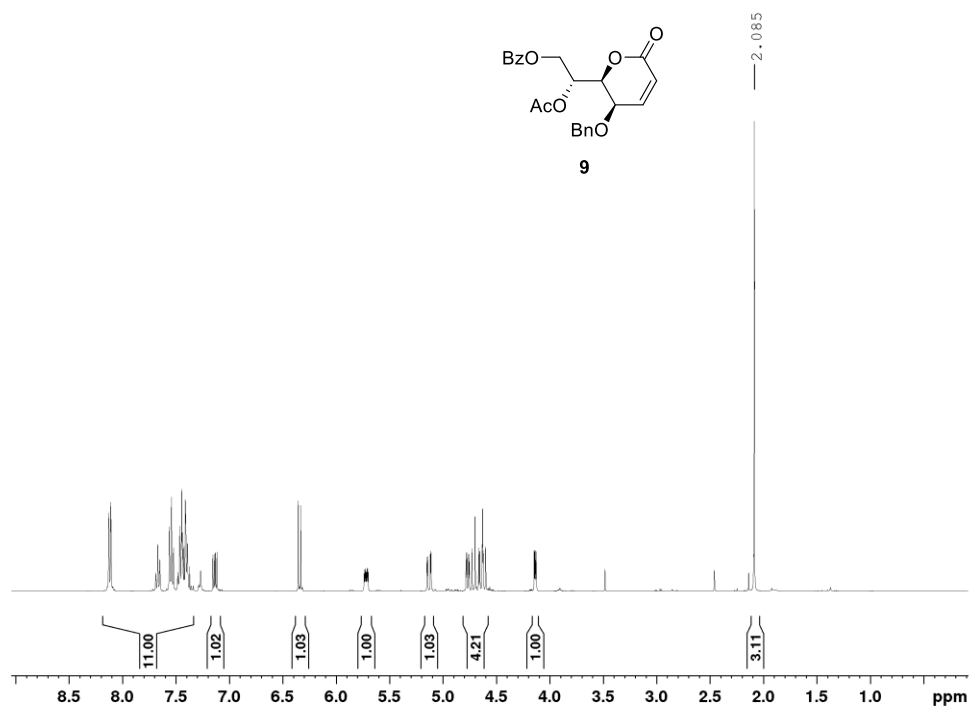
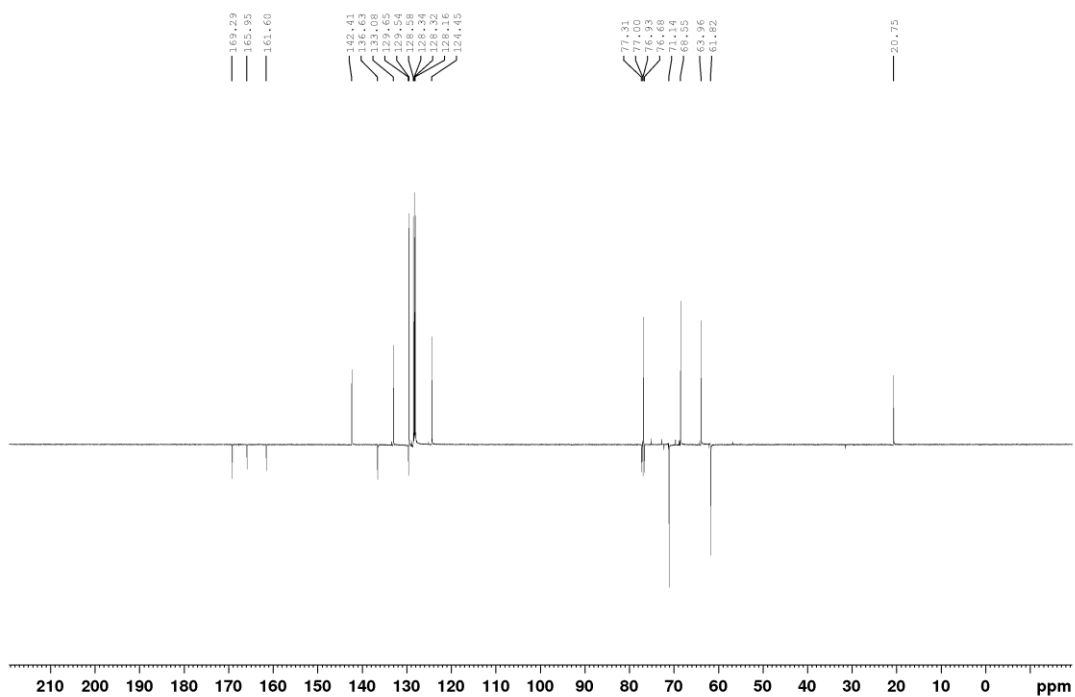
GBK2L, CDC13, 24.05.16.

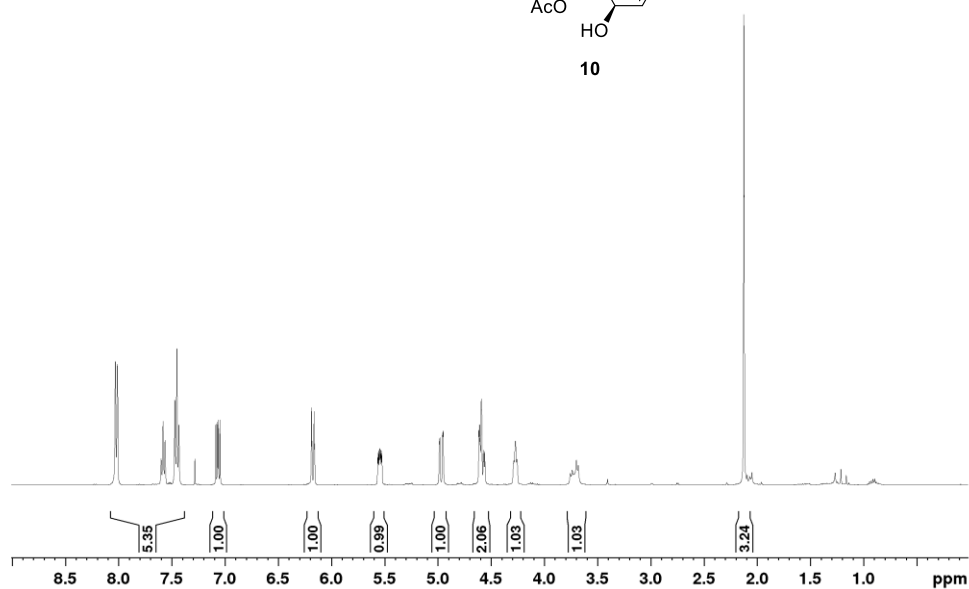
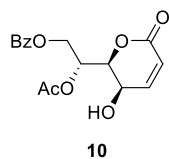
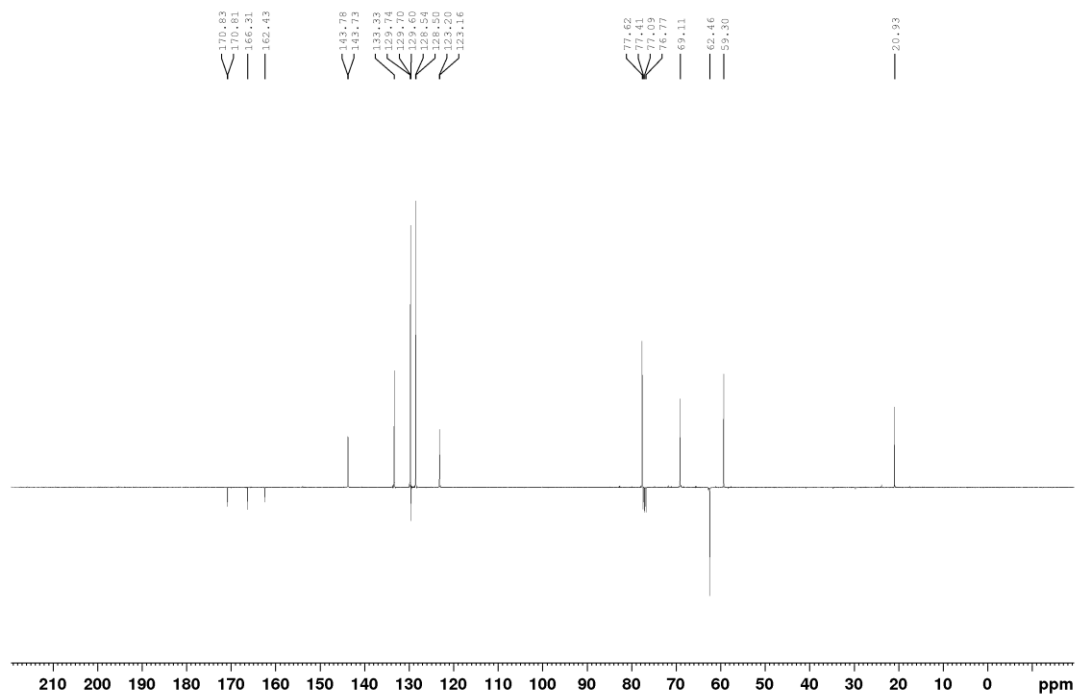


GBK2L, CDC13, 24.05.16.



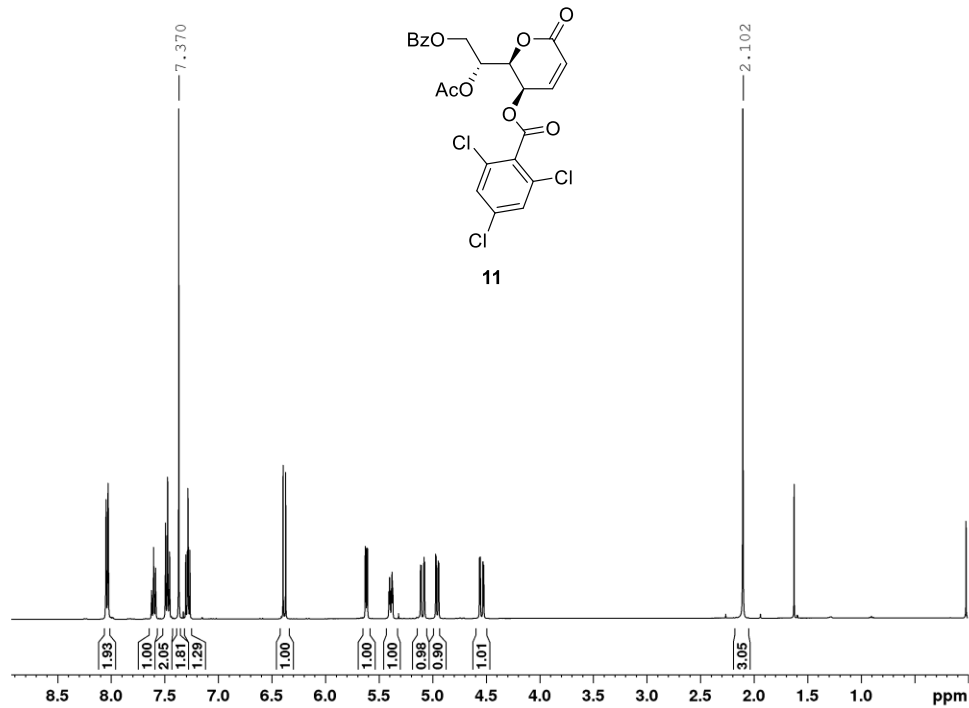
^1H i ^{13}C NMR Spektri jedinjenja 8 (CDCl_3)GBK12AW, CDCl_3 , 7.1.17.GBK12AW, CDCl_3 , 3.1.17.

^1H i ^{13}C NMR Spektri jedinjenja 9 (CDCl_3)GBK12Ac, NOVO, CDCl_3 GBK12Ac, NOVO, CDCl_3 , 18.12.14.

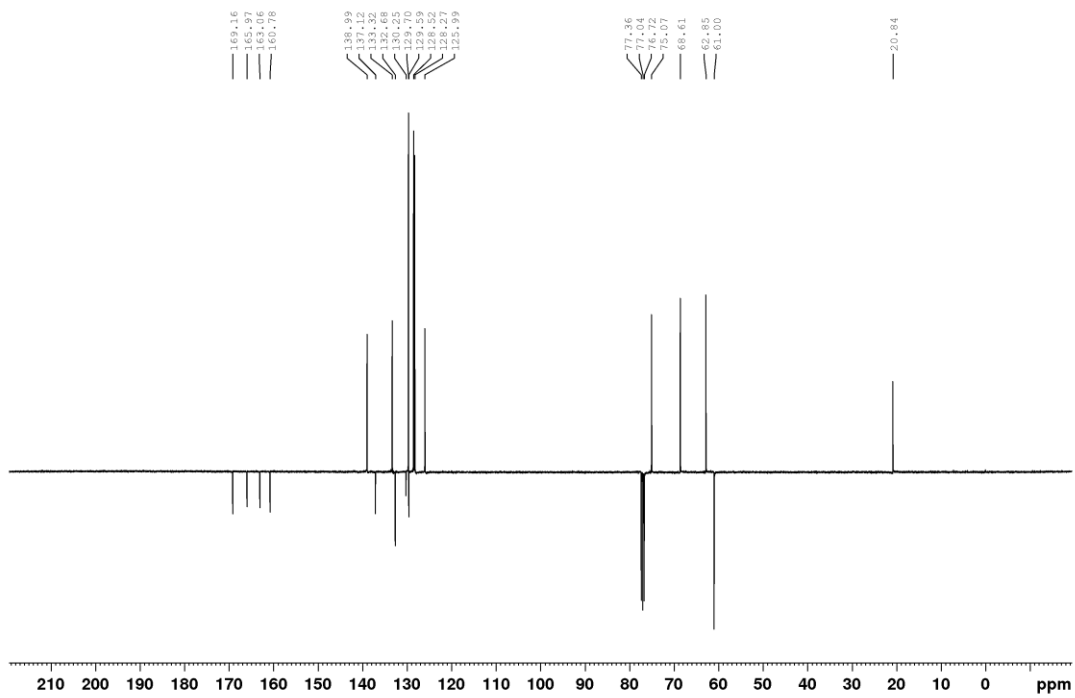
^1H i ^{13}C NMR Spektri jedinjenja 10 (CDCl_3)GBT2, CDCl_3 , 22.2.15.GBT2, CDCl_3 , 22.2.15.

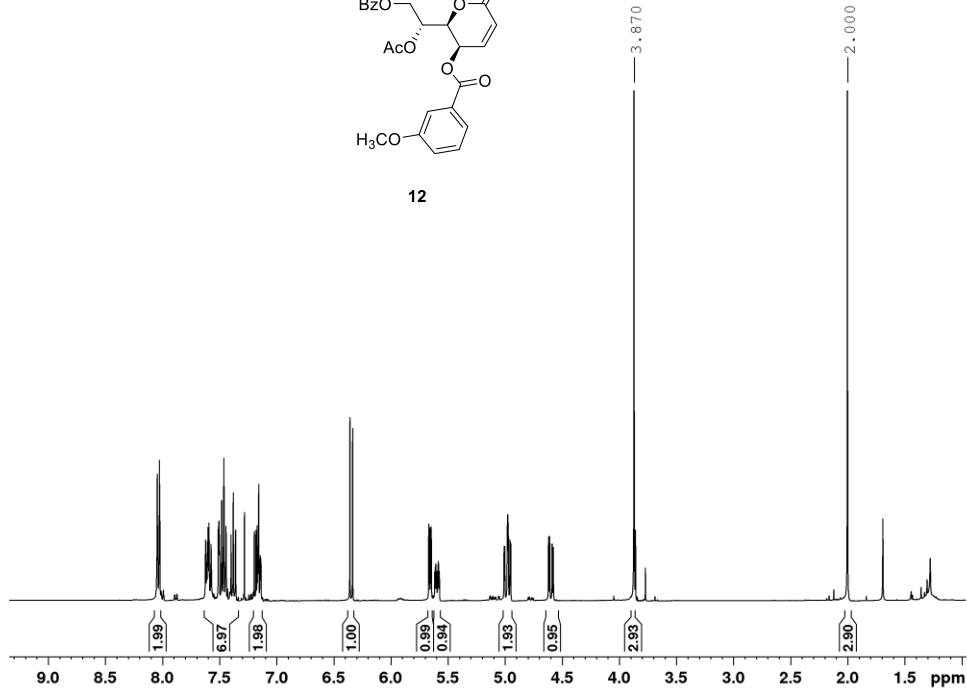
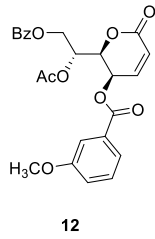
^1H i ^{13}C NMR Spektri jedinjenja 11 (CDCl_3)

SFGB1, 23.09.19.CDC13

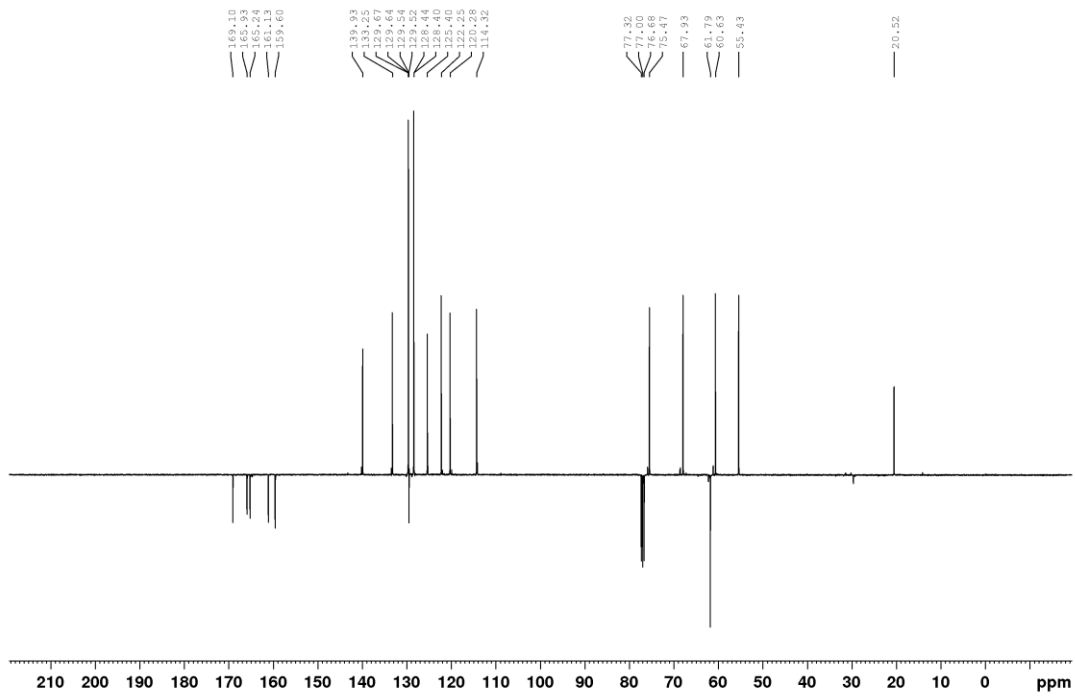


SFGB1, 23.09.19.CDC13



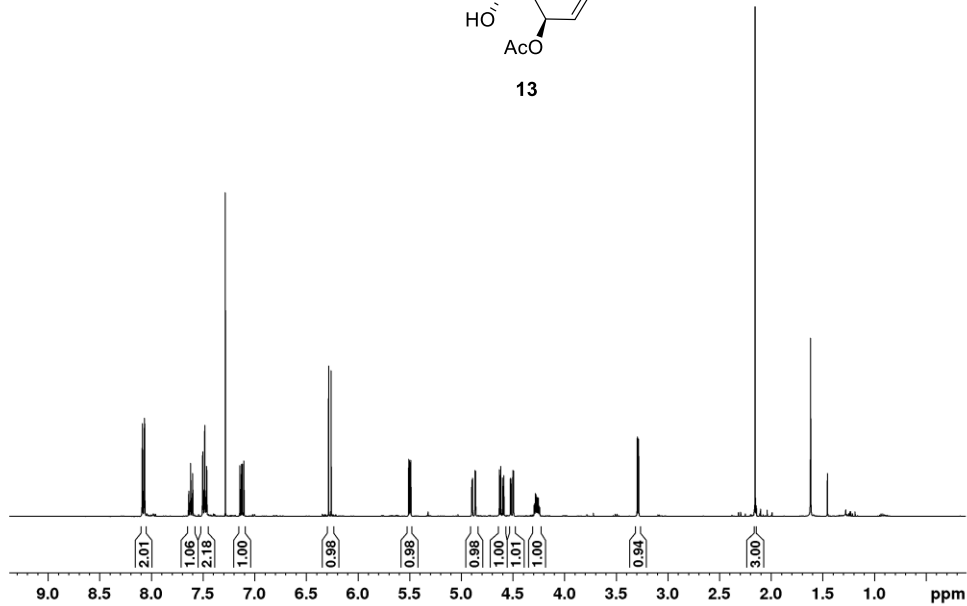
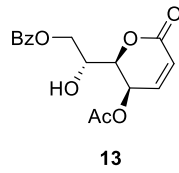
^1H i ^{13}C NMR Spektri jedinjenja 12 (CDCl_3)SFGB2, 12.11
0.19.CDC13

SFGB2, 12.11.19.CDC13

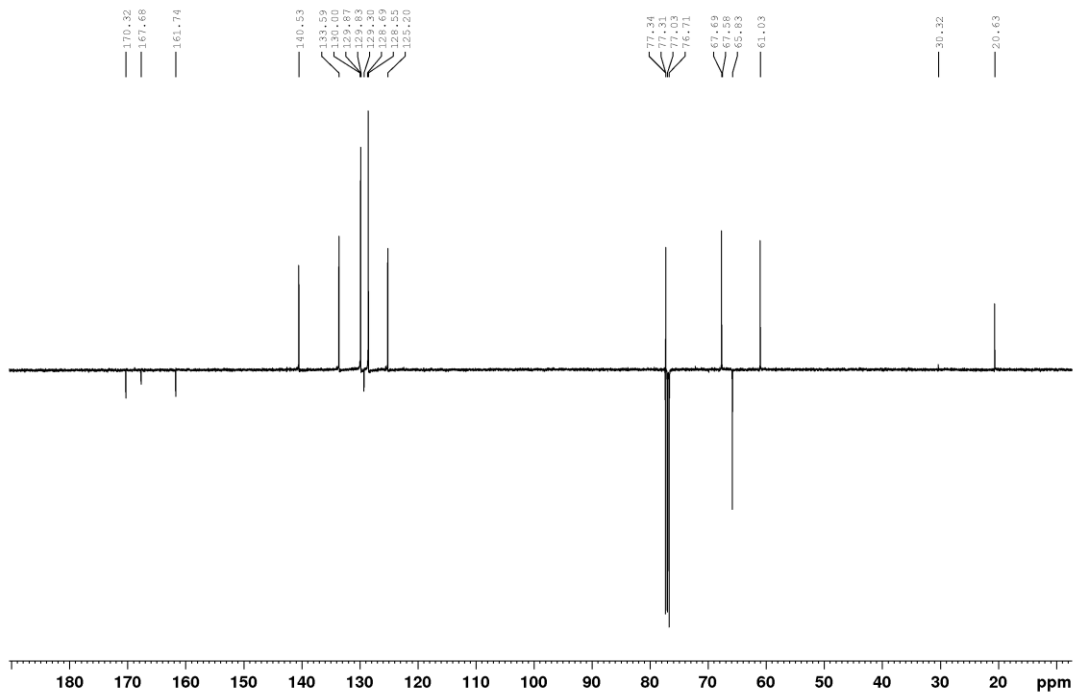


^1H i ^{13}C NMR Spektri jedinjenja 13 (CDCl_3)

SFGB5, 29.10.19.CDC13

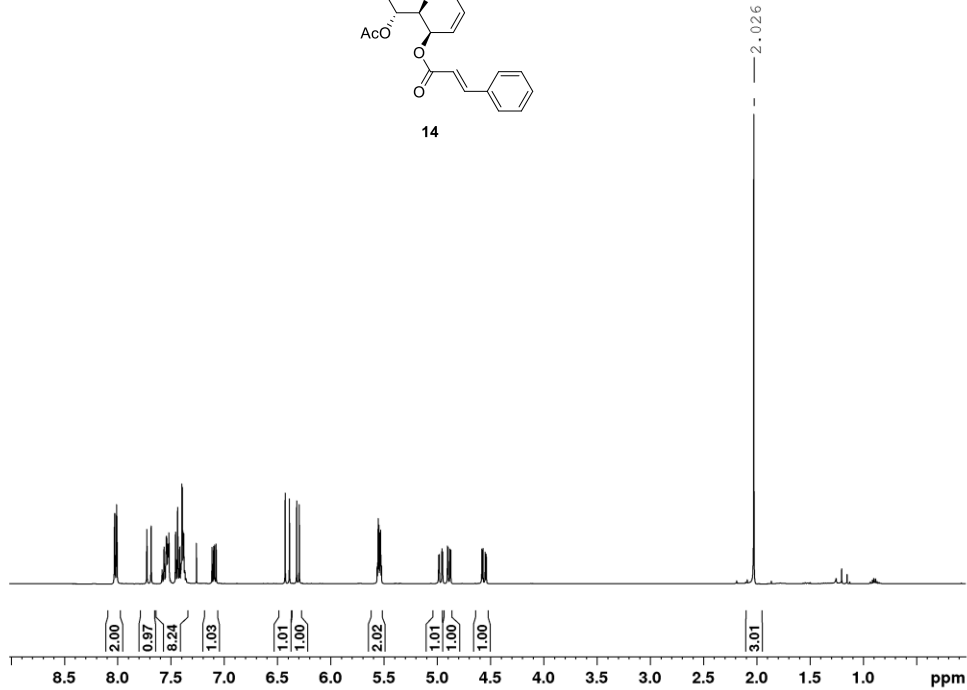
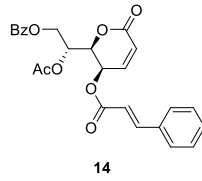


SFGB5, 29.10.19.CDC13

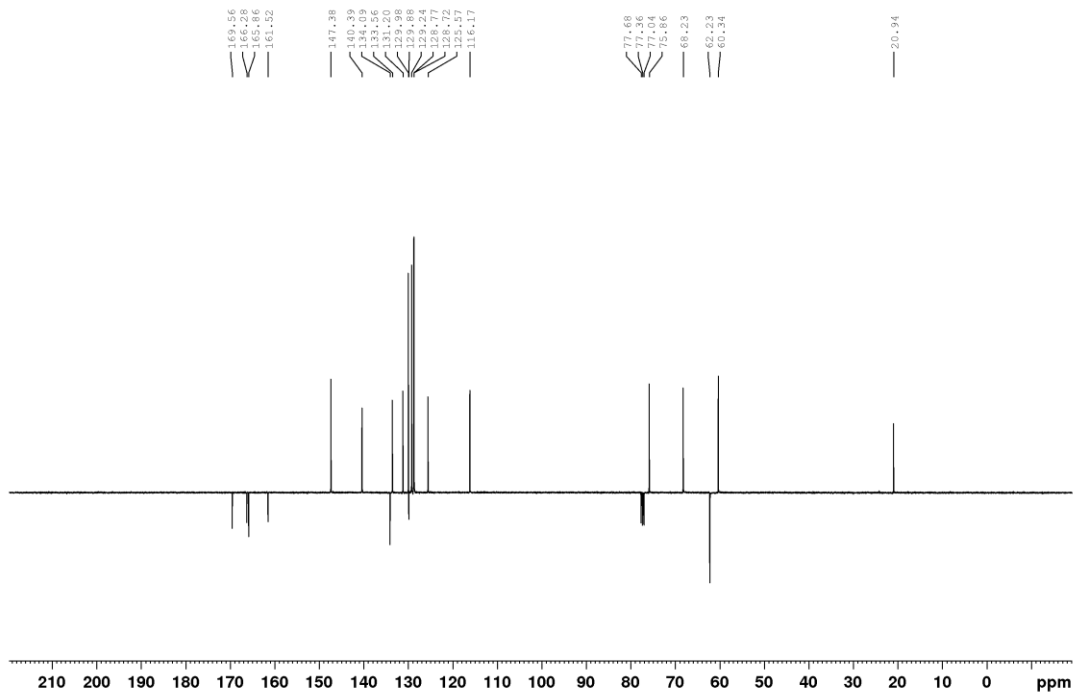


^1H i ^{13}C NMR Spektri jedinjenja 14 (CDCl_3)

GBC4C, CDC13, 12.06.17.

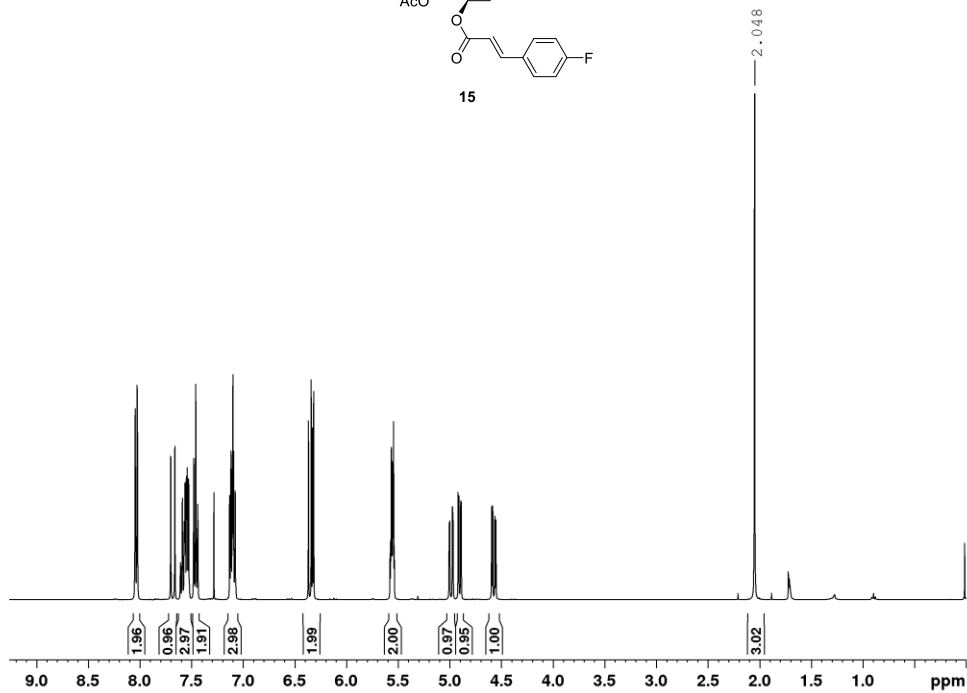
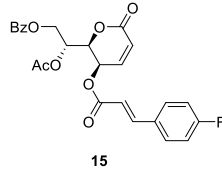


GBC4C, 12.06.17, CDC13

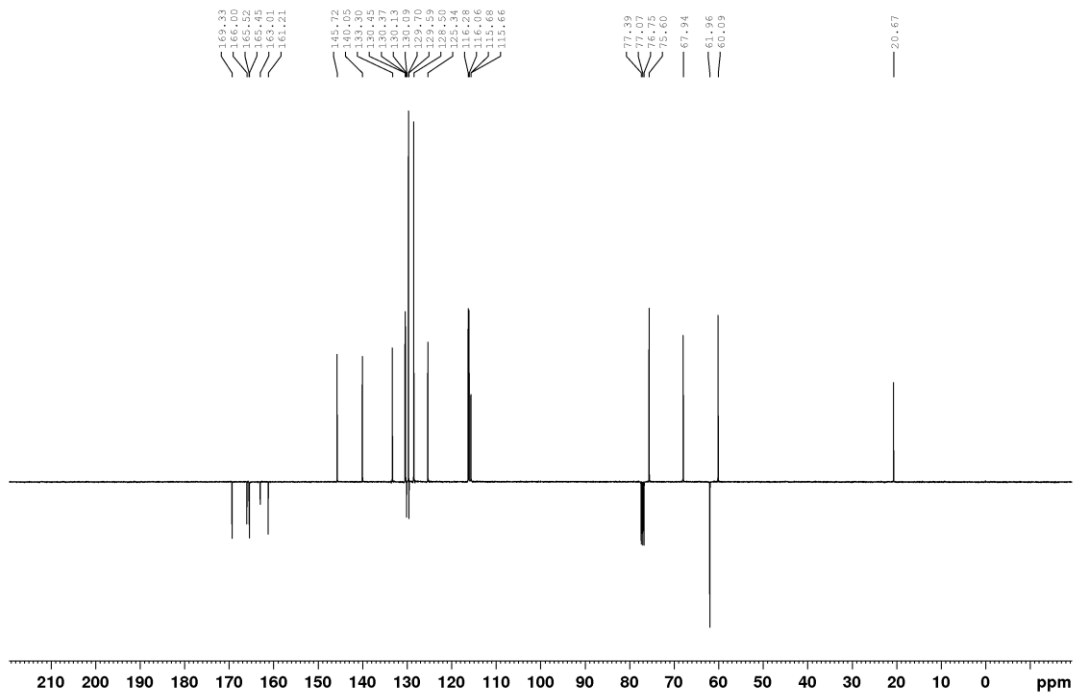


^1H i ^{13}C NMR Spektri jedinjenja 15 (CDCl_3)

SFGB7, 30.09.19.CDC13

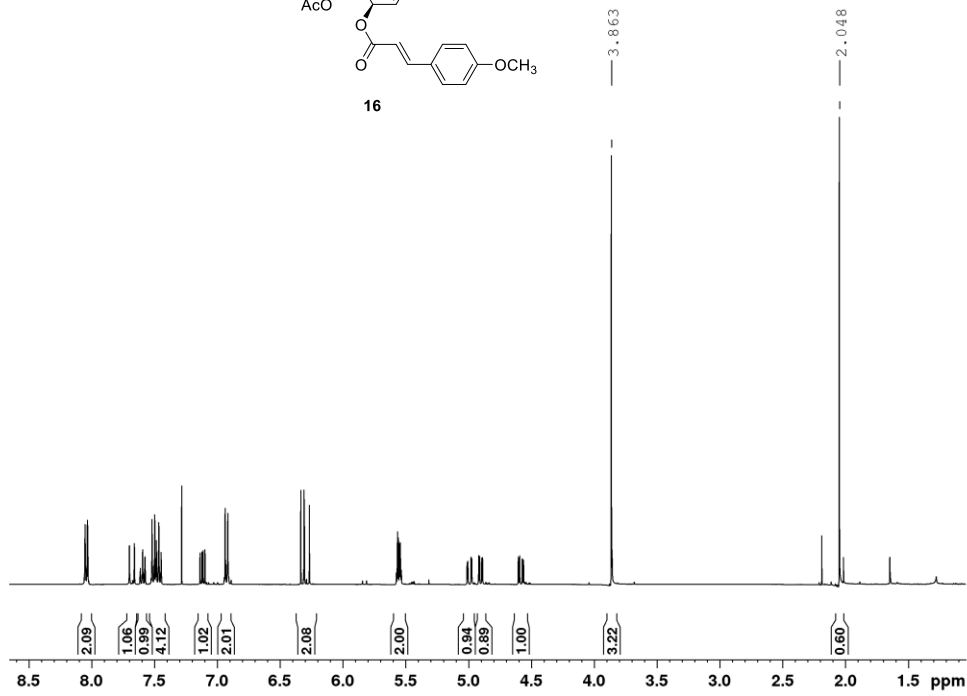
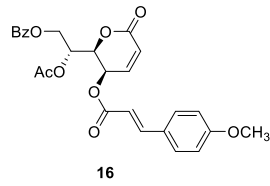


SFGB7, 30.09.19.CDC13

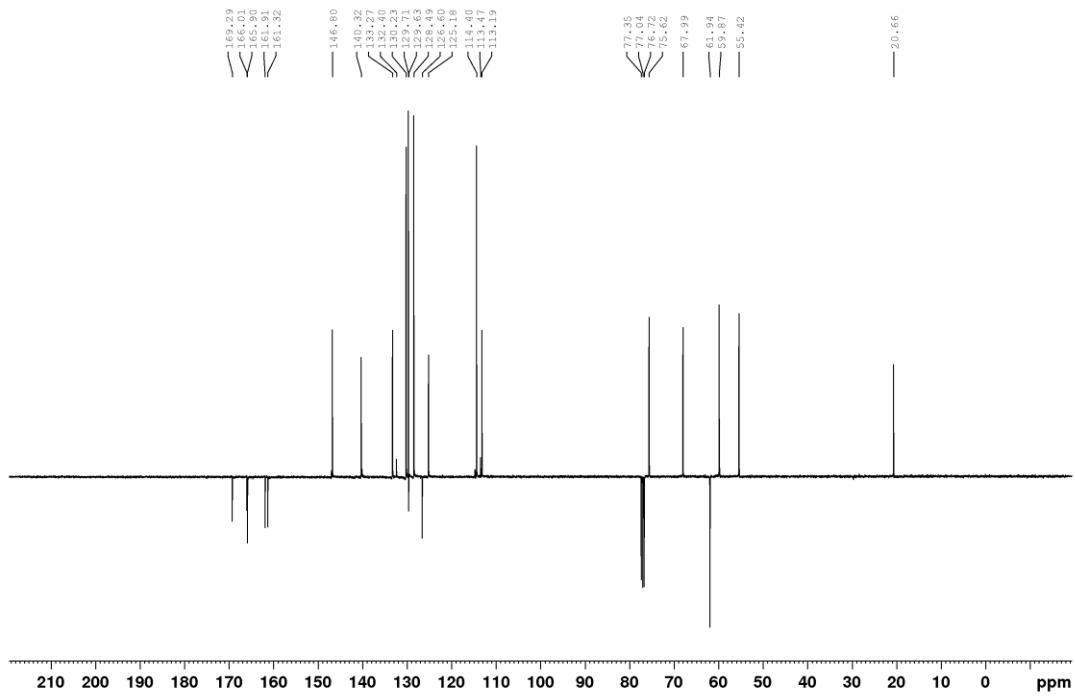


^1H i ^{13}C NMR Spektri jedinjenja 16 (CDCl_3)

SFGB4, 20.09.19.CDC13

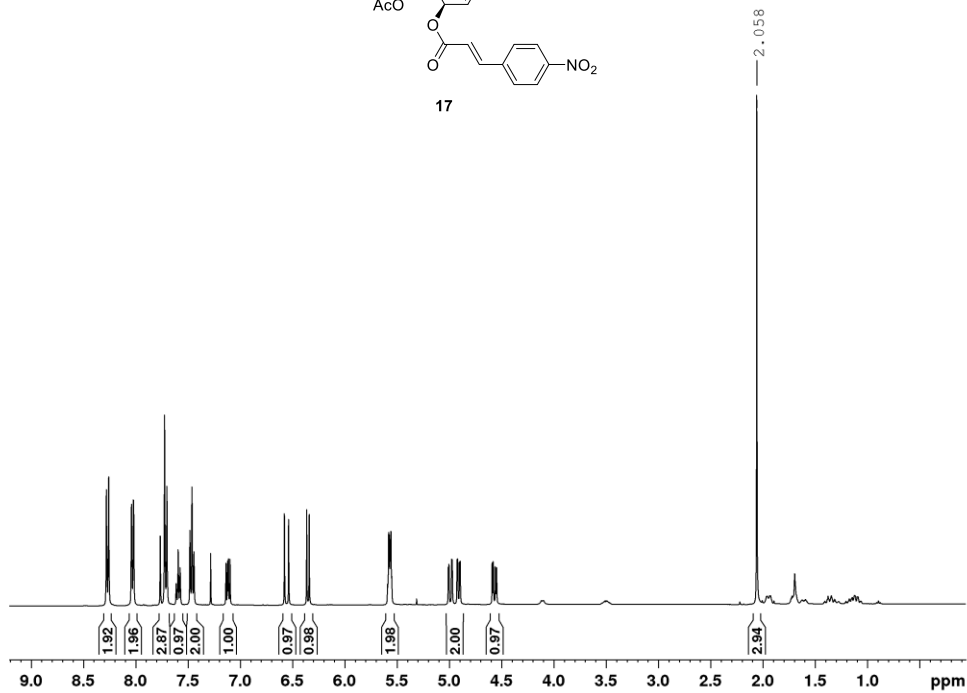
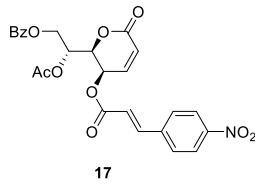


SFGB4, 20.09.19.CDC13

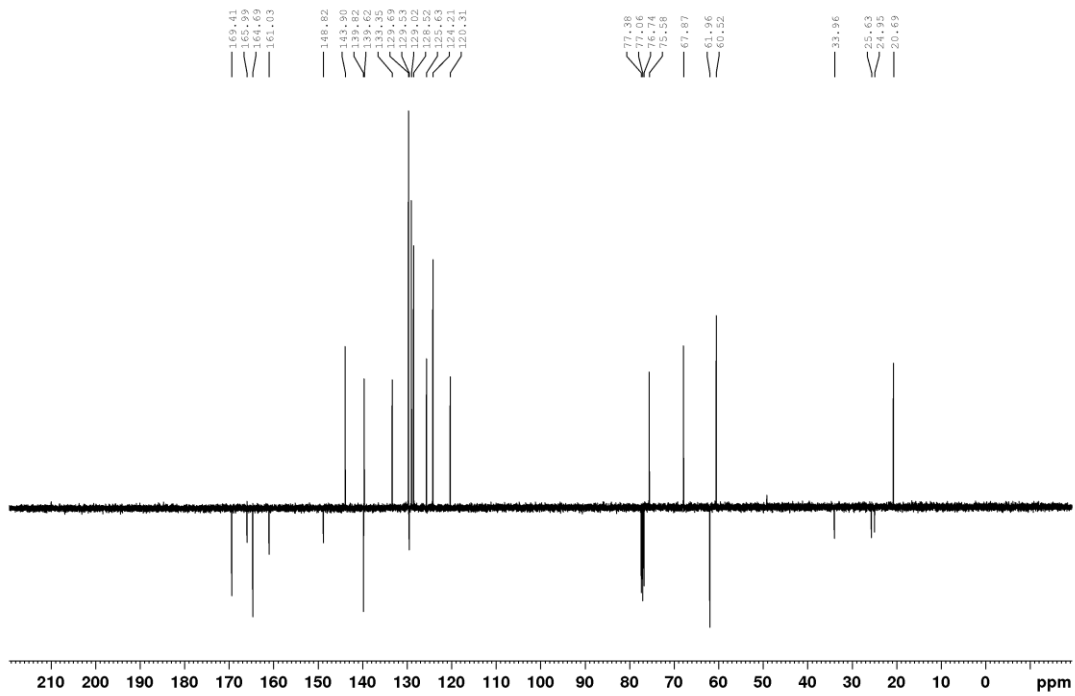


^1H i ^{13}C NMR Spektri jedinjenja 17 (CDCl_3)

SFGB3, 20.09.19.CDC13

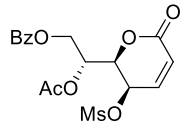
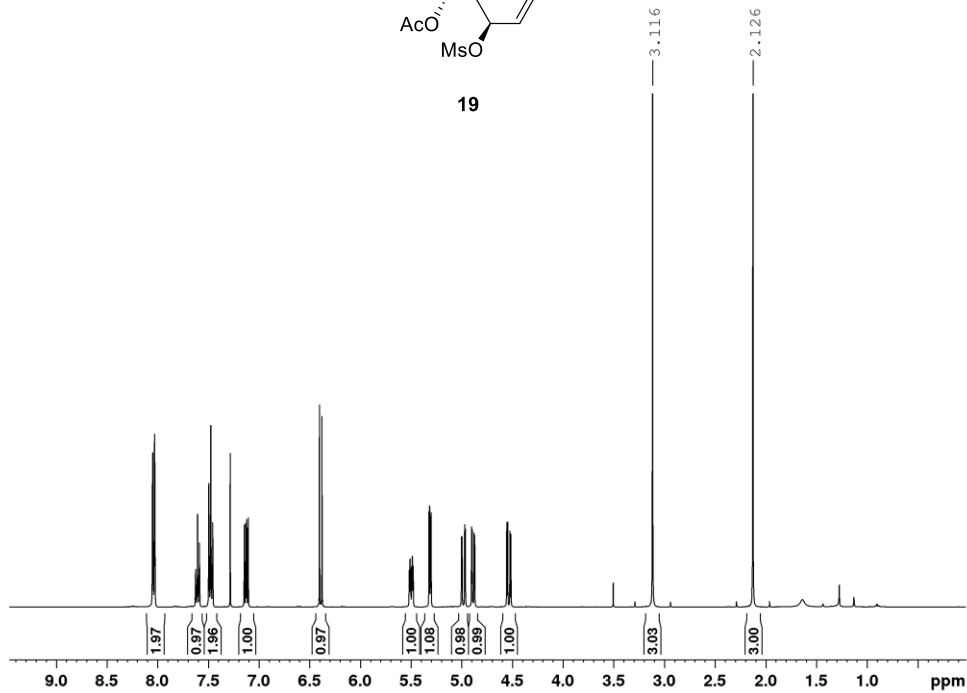


SFGB3, 20.09.19.CDC13

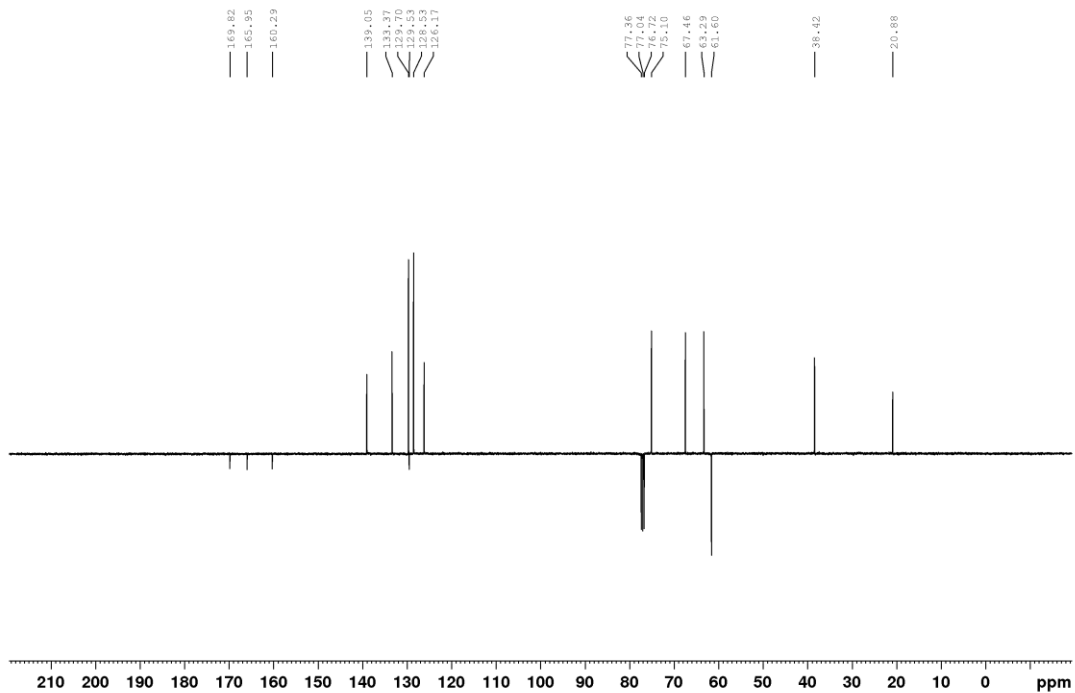


^1H i ^{13}C NMR Spektri jedinjenja 19 (CDCl_3)

SFGB12, 27.11.20.CDC13

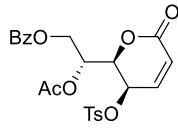
**19**

SFGB12, 27.11.20.CDC13

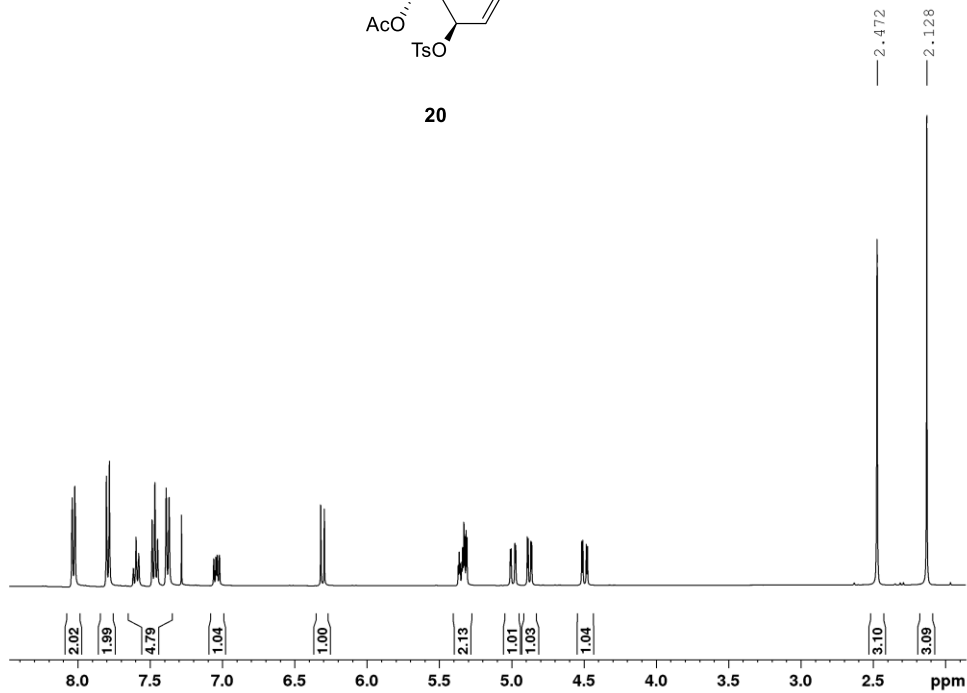


^1H i ^{13}C NMR Spektri jedinjenja 20 (CDCl_3)

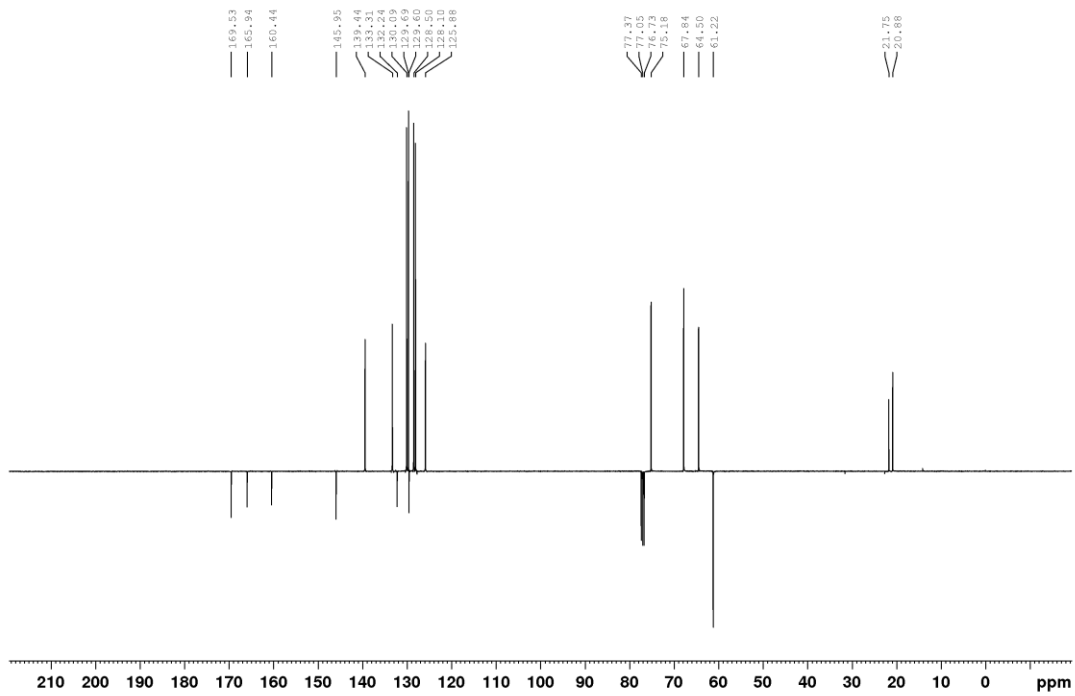
SFGB8, 26.11.19.CDC13



20

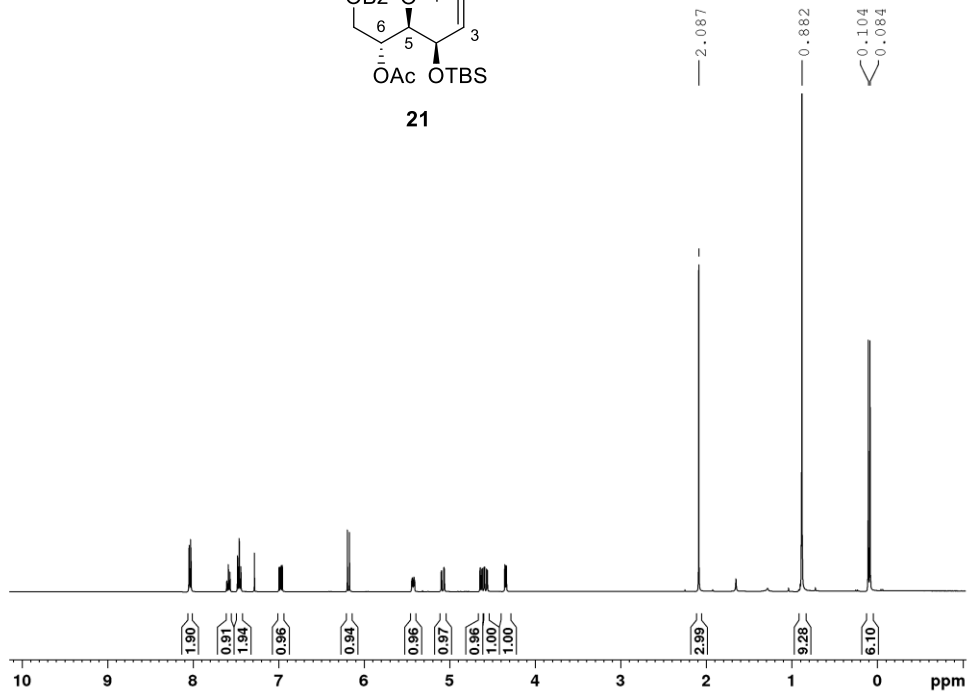
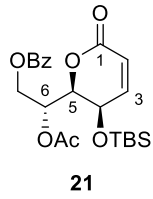


SFGB8, 26.11.19.CDC13

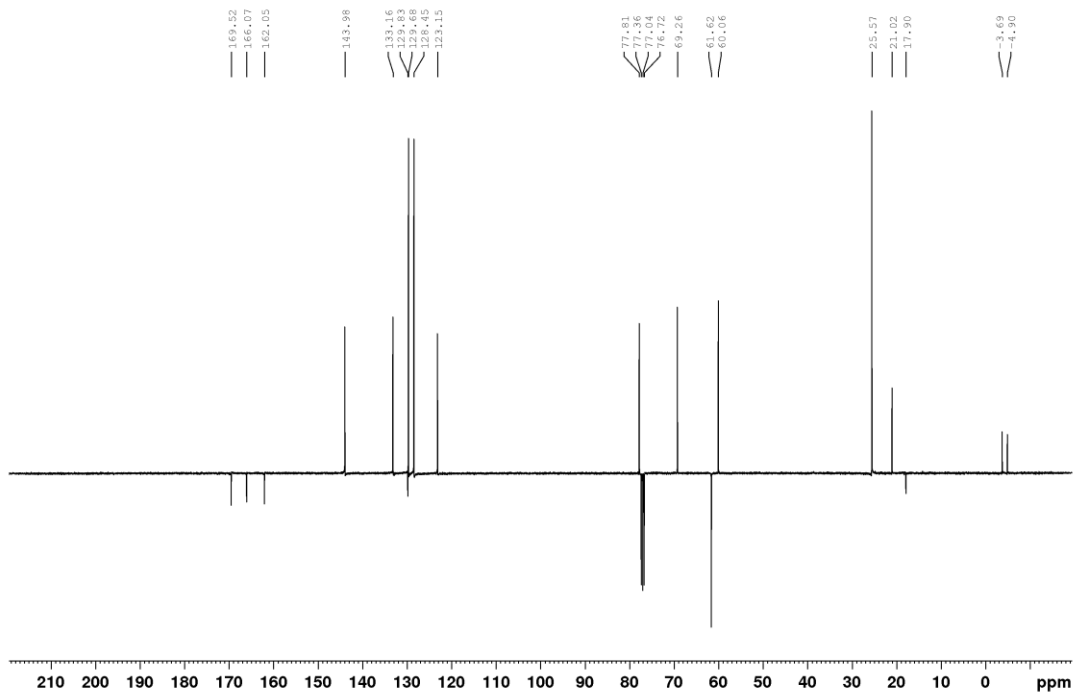


^1H i ^{13}C NMR Spektri jedinjenja 21 (CDCl_3)

SFGB10, 3.11.20.CDC13

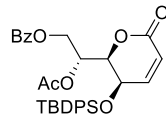


SFGB10, 3.11.20.CDC13

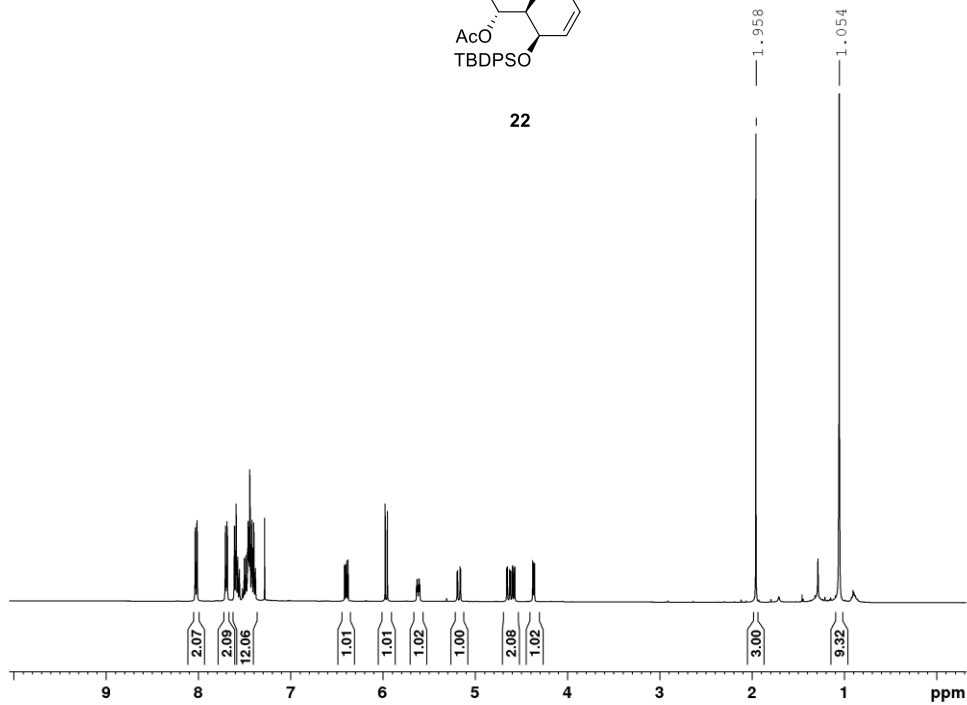


^1H i ^{13}C NMR Spektri jedinjenja 22 (CDCl_3)

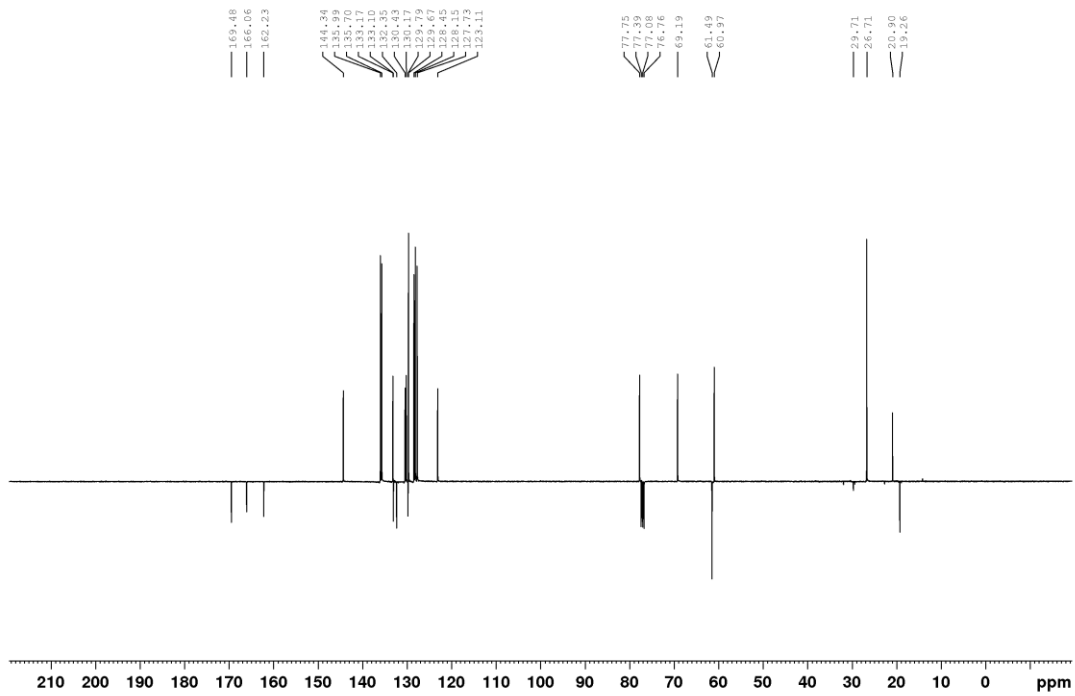
SFGB9, CDC13 , 29.12.20.

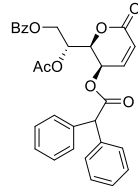


22

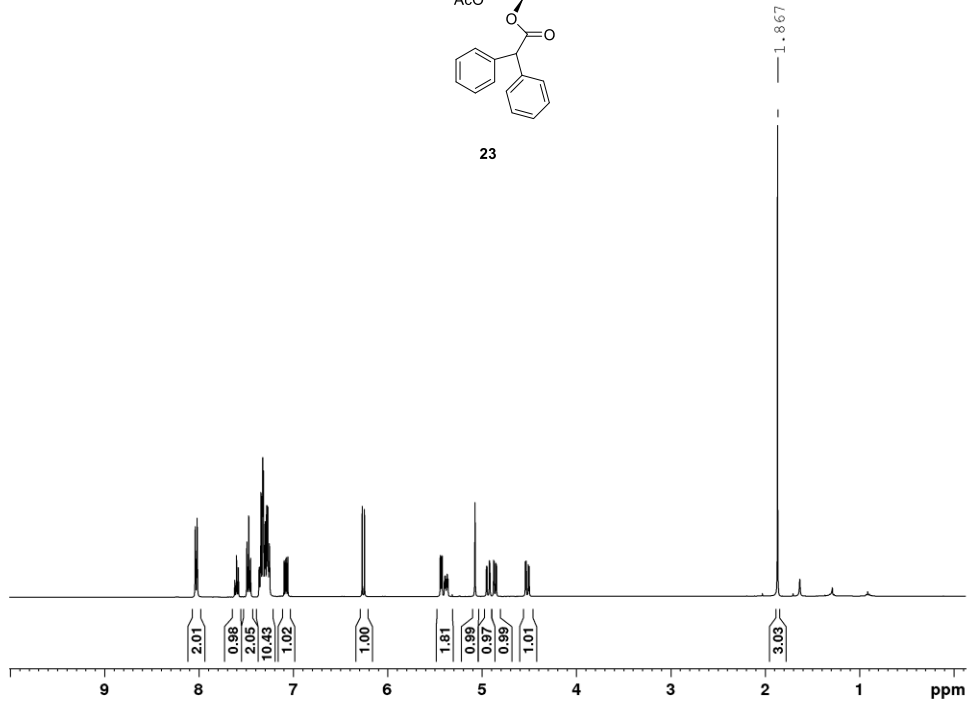
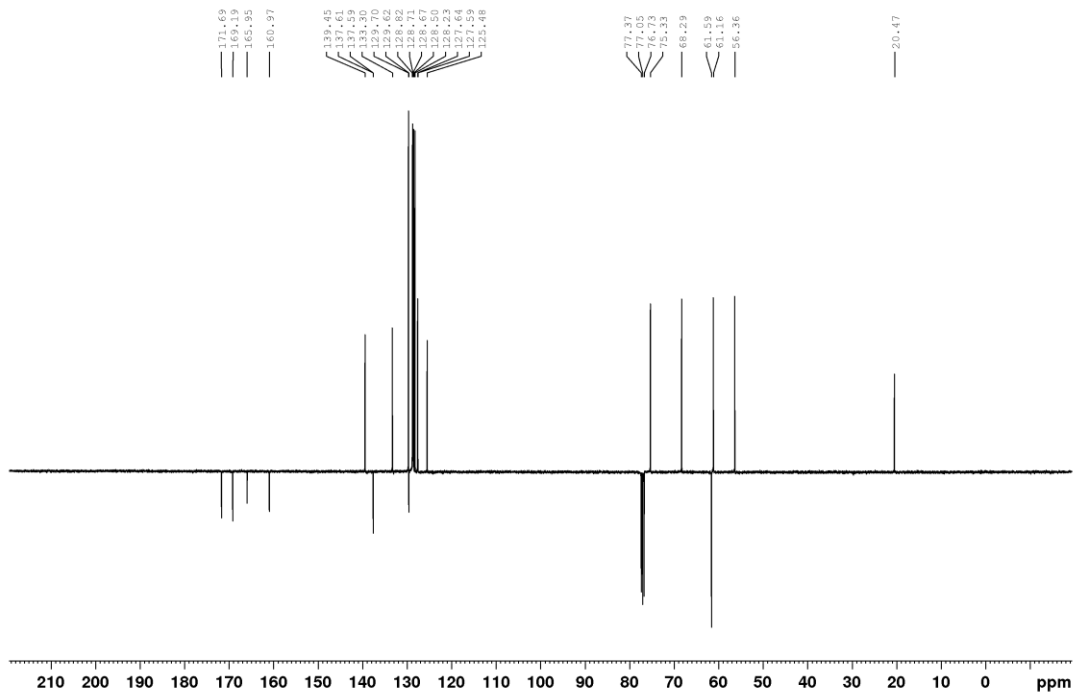


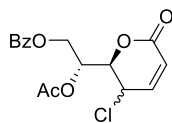
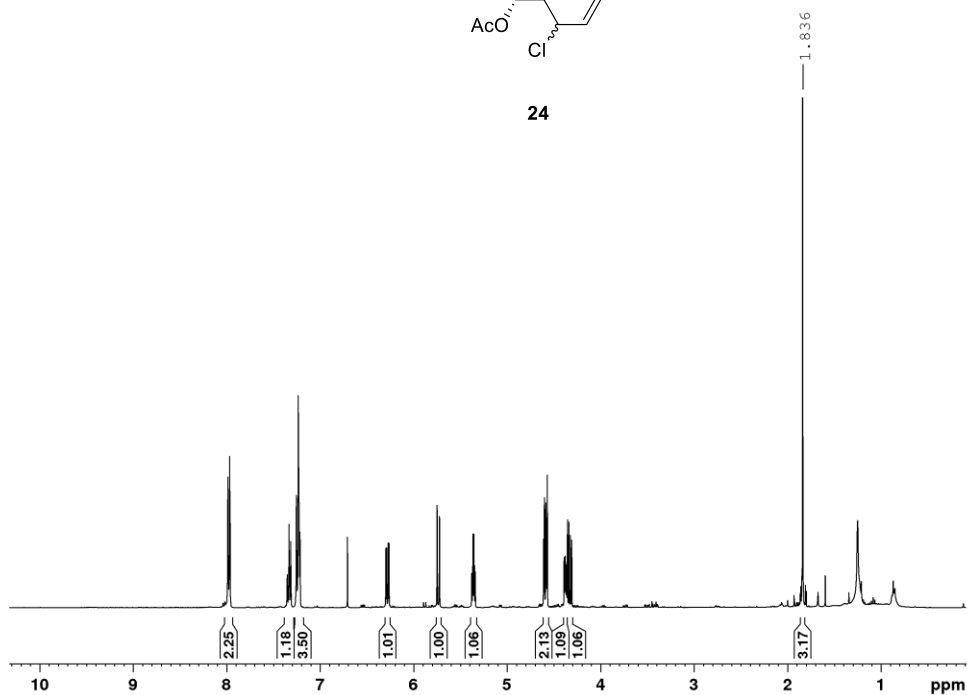
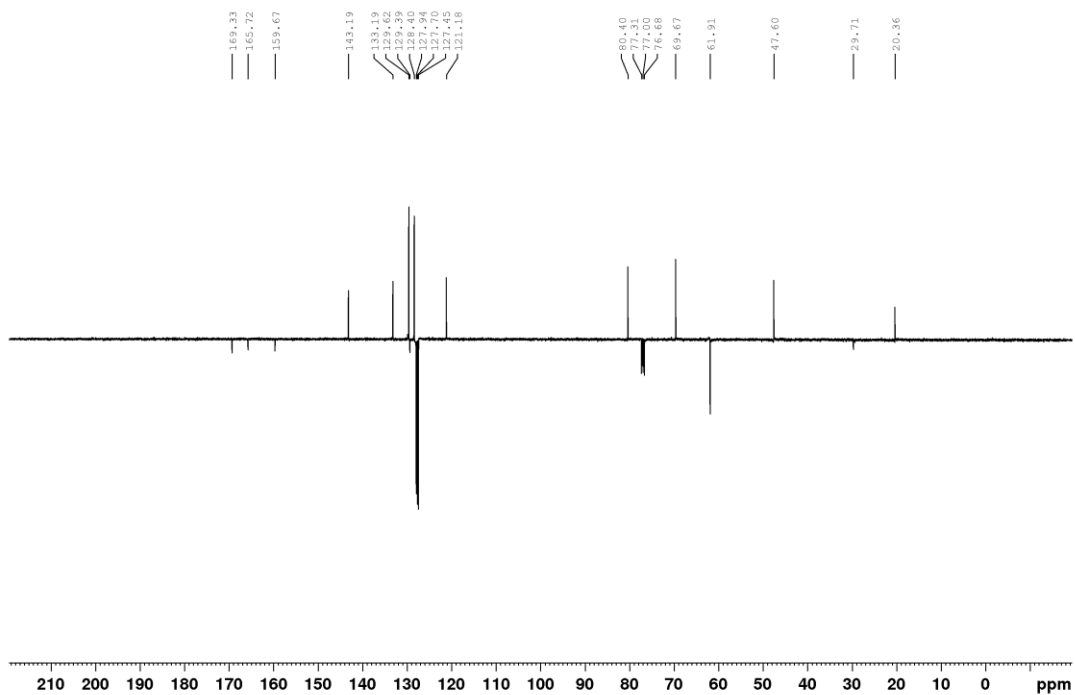
SFGB9, CDC13 , 29.12.20.

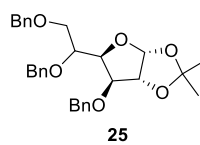
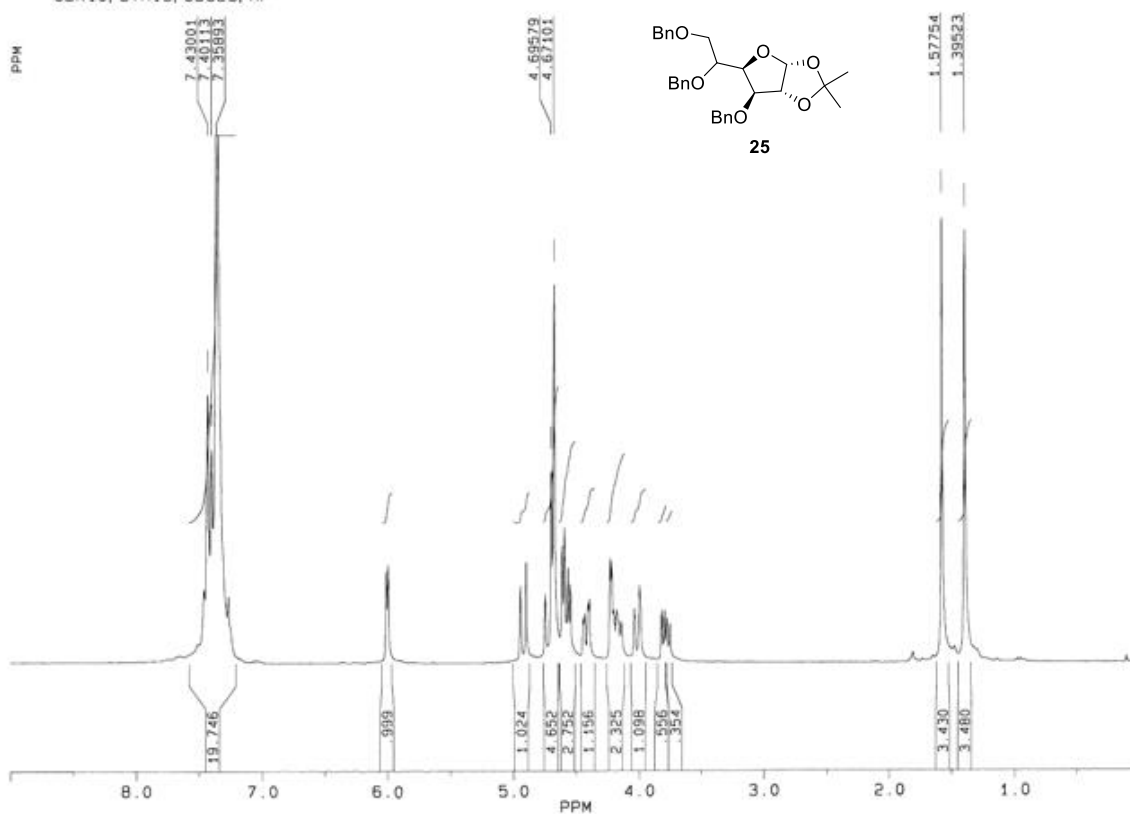


^1H i ^{13}C NMR Spektri jedinjenja 23 (CDCl_3)SFGB16, CDCl_3 , 22.12.20.

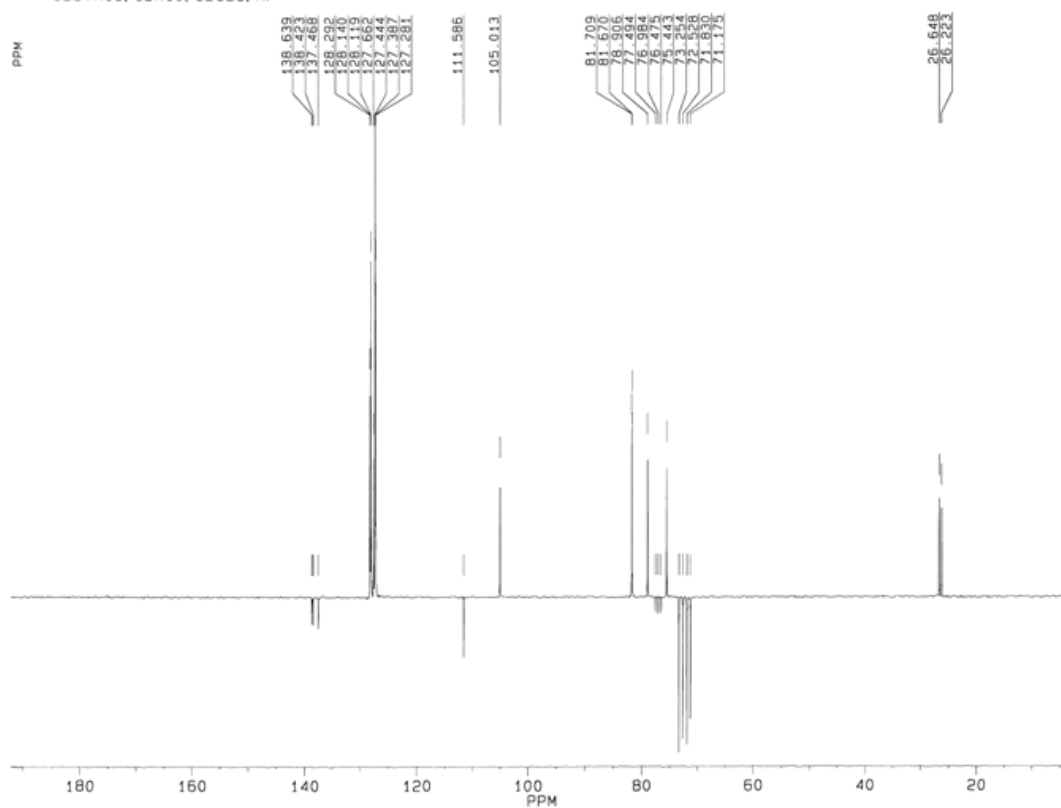
23

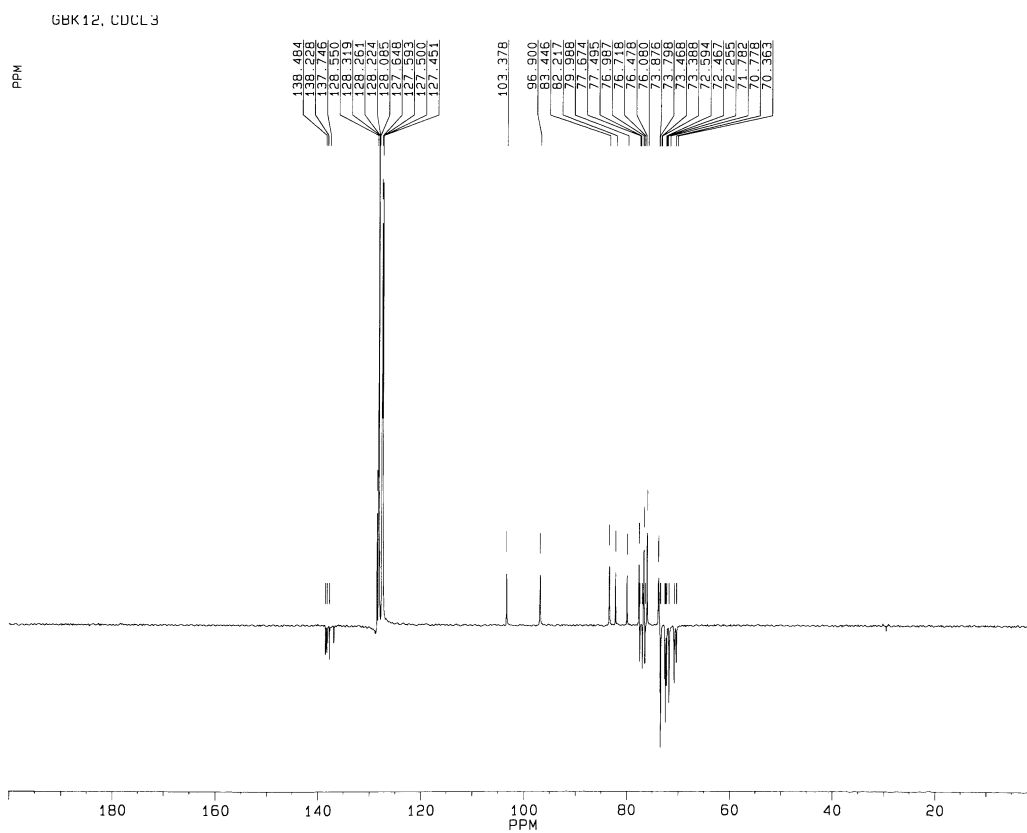
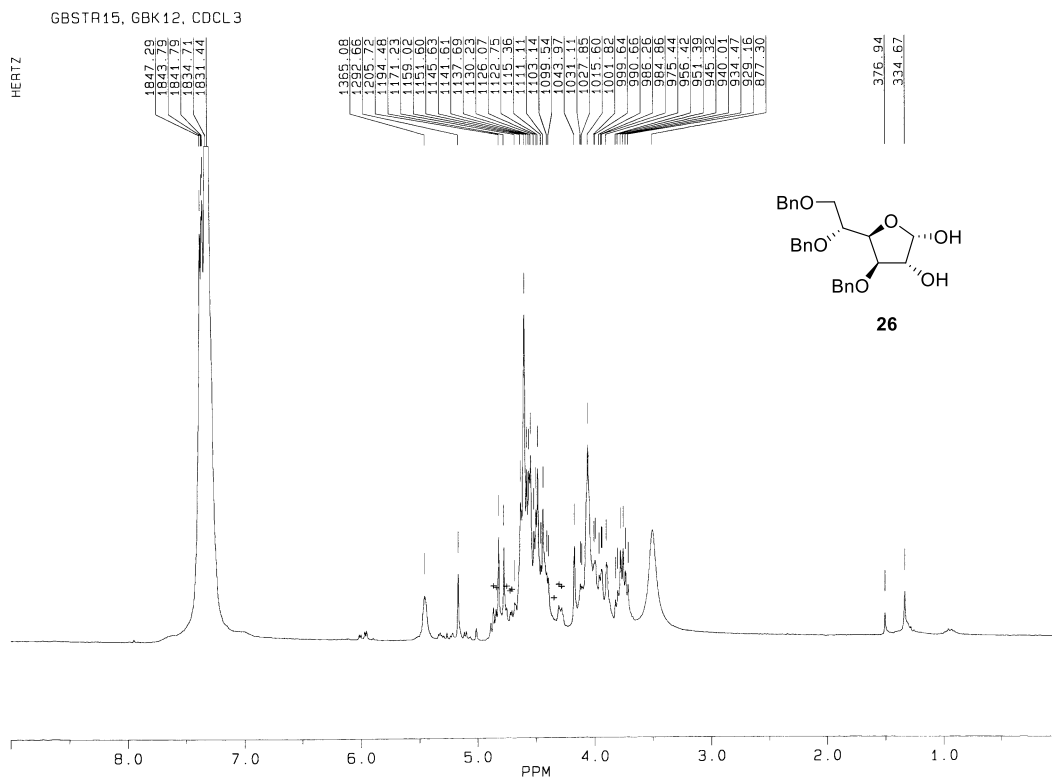
SFGB16, CDCl_3 , 22.12.20.

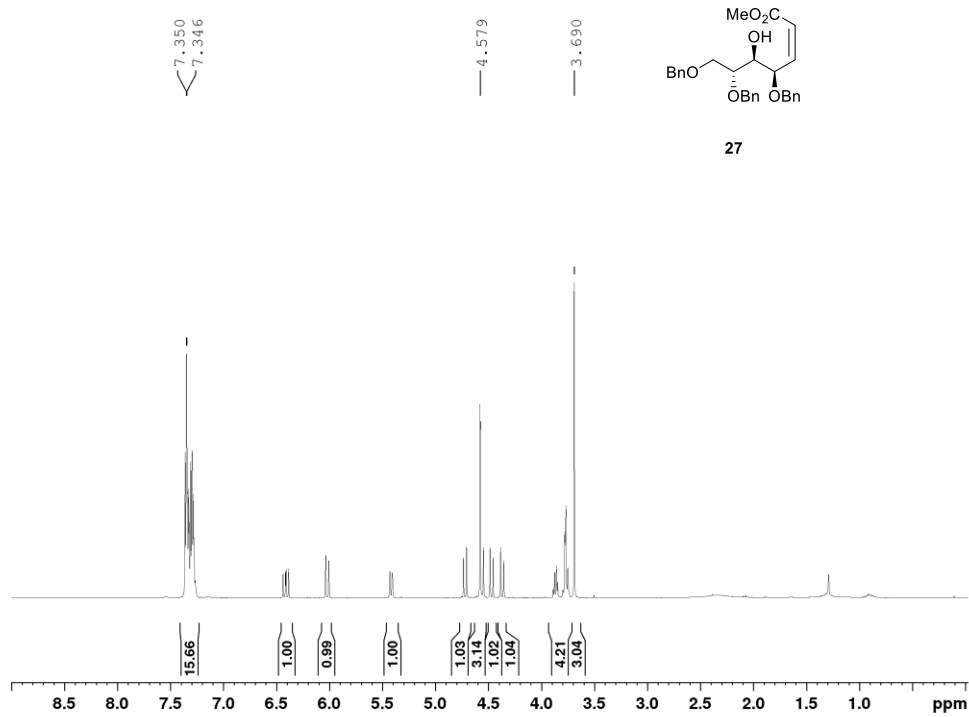
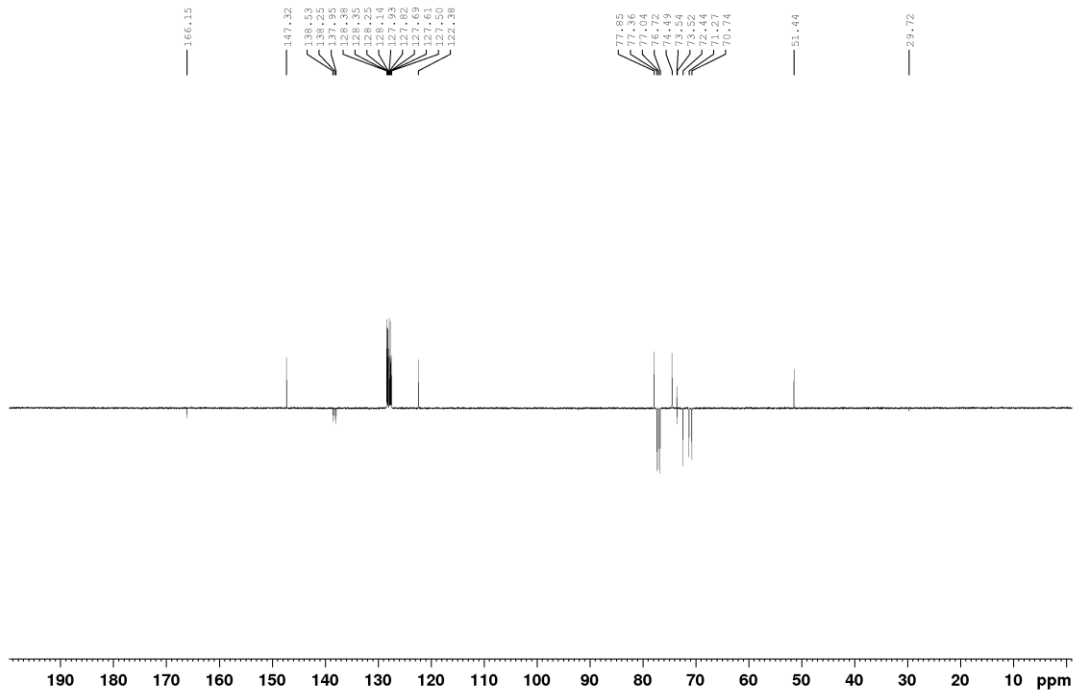
^1H i ^{13}C NMR Spektri jedinjenja 24 (CDCl_3)SFGB11, CDCl_3 +D6D6, 14.12.20.GORNJA**24**SFGB11, CDCl_3 +D6D6, 14.12.20.GORNJA

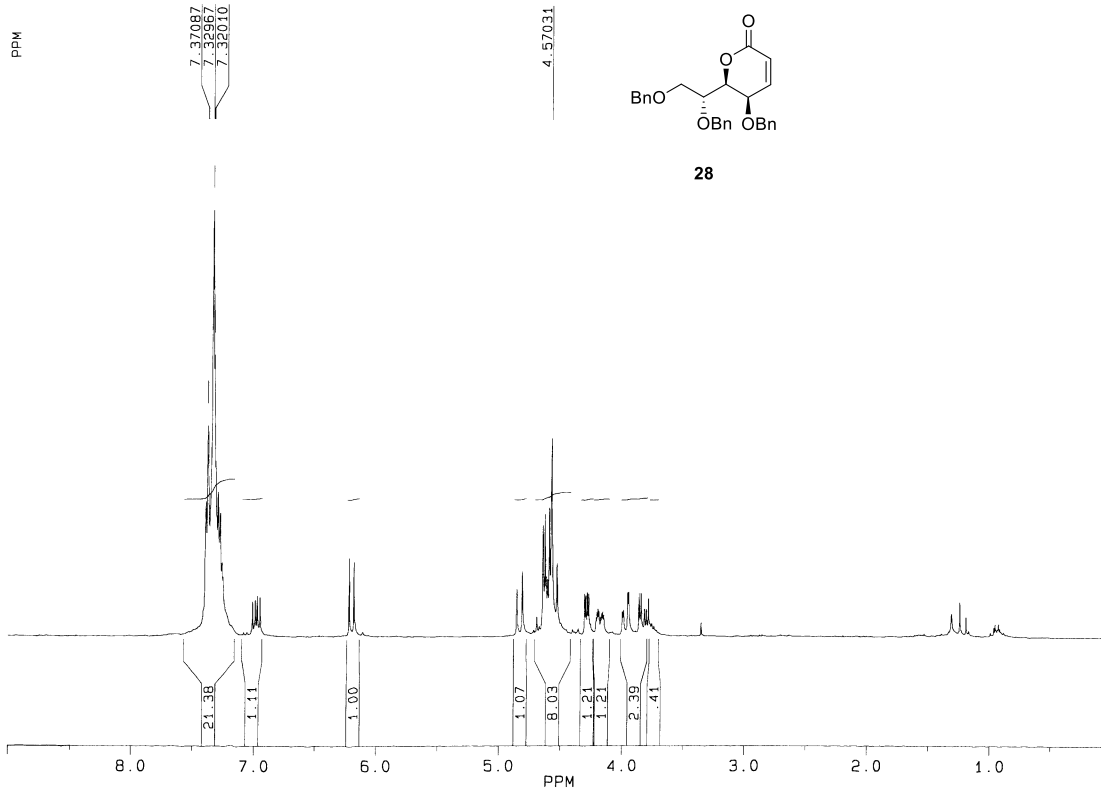
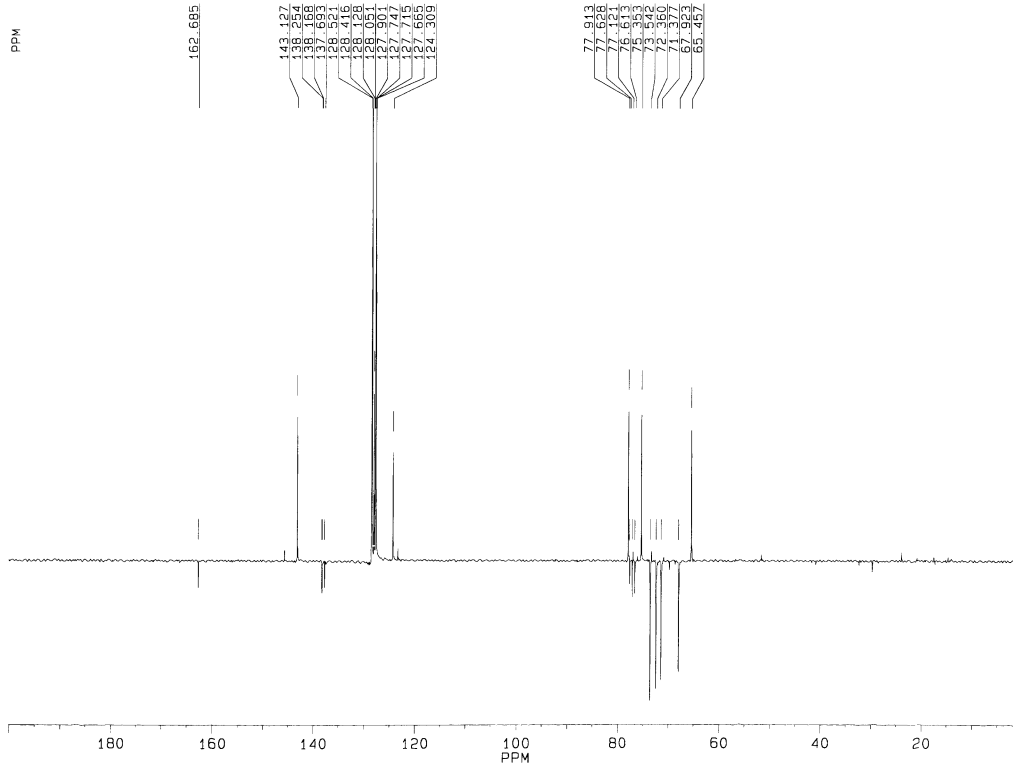
^1H i ^{13}C NMR Spektri jedinjenja 25 (CDCl_3)GBK10, STR13, CDCl_3 , MP

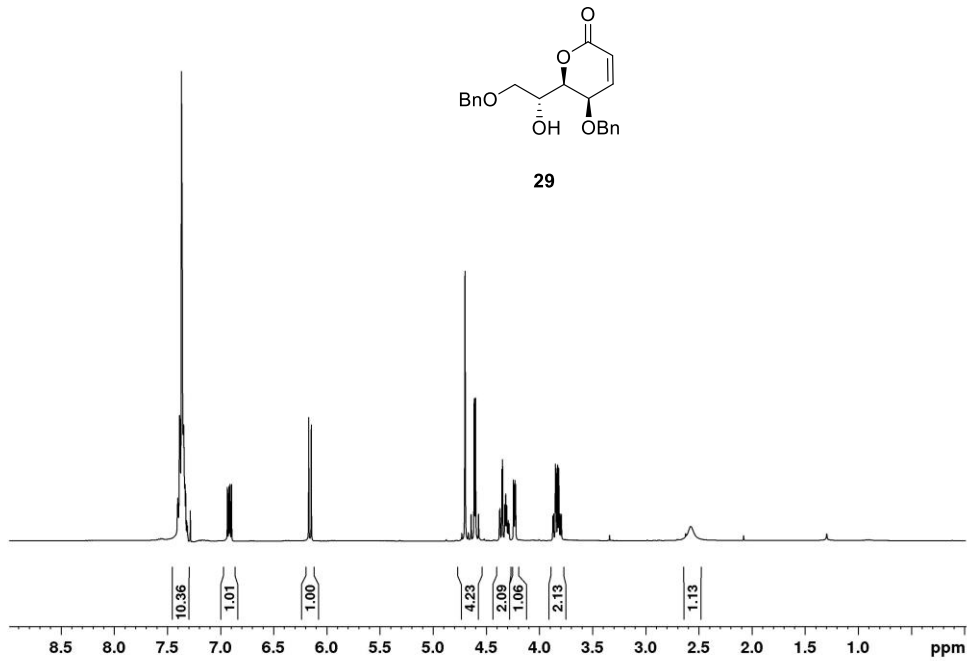
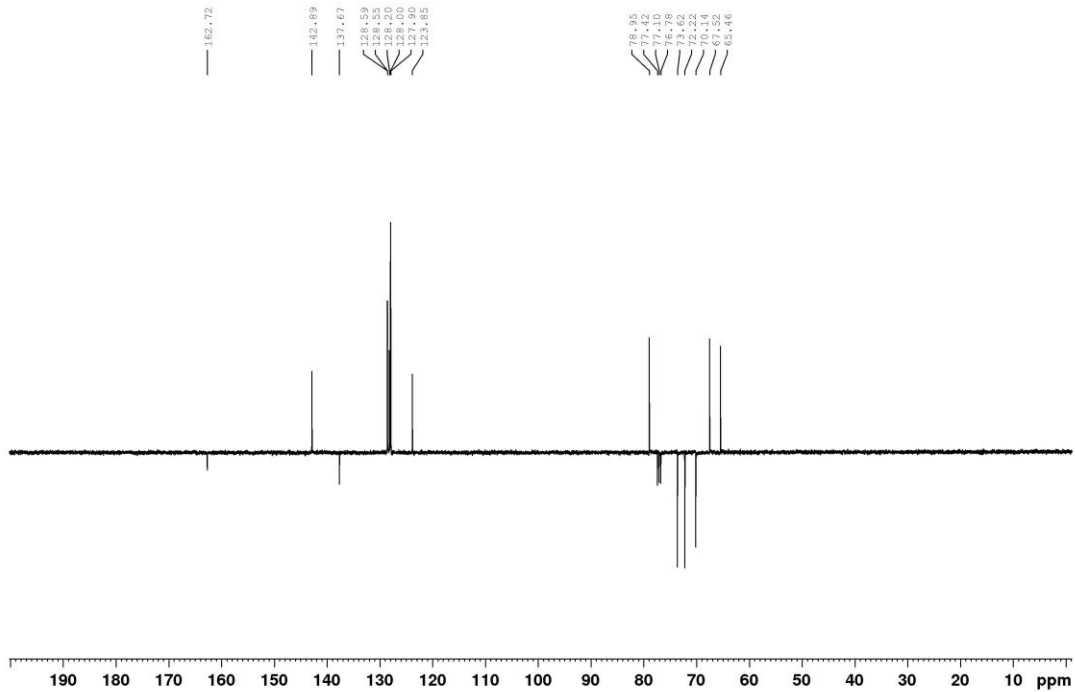
25

GBSTR13, GBK10, CDCl_3 , MP

^1H i ^{13}C NMR Spektri jedinjenja 26 (CDCl_3)

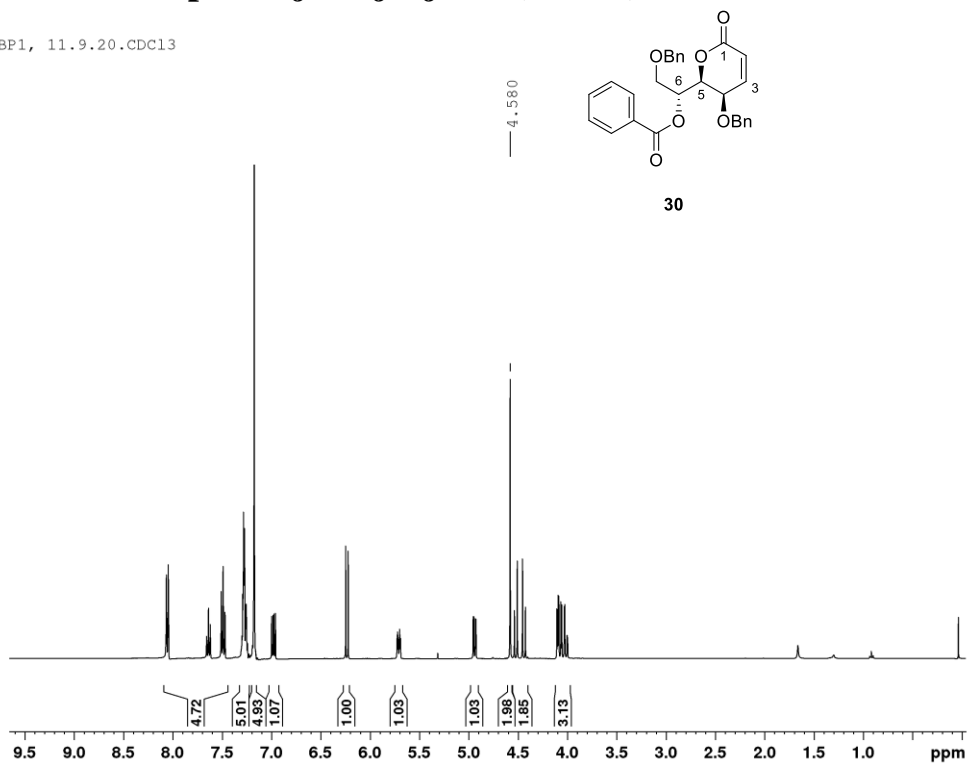
^1H i ^{13}C NMR Spektri jedinjenja 27 (CDCl_3)GBK14W, CDCl_3 , 9.04.15.NOVOGBK14W, CDCl_3 , 9.04.15.NOVO

^1H i ^{13}C NMR Spektri jedinjenja 28 (CDCl_3)GBK15, PTSAXH20, GBSTR24, CDCl_3 GBK15, CDCl_3 , PTSAXH20, GBSTR24

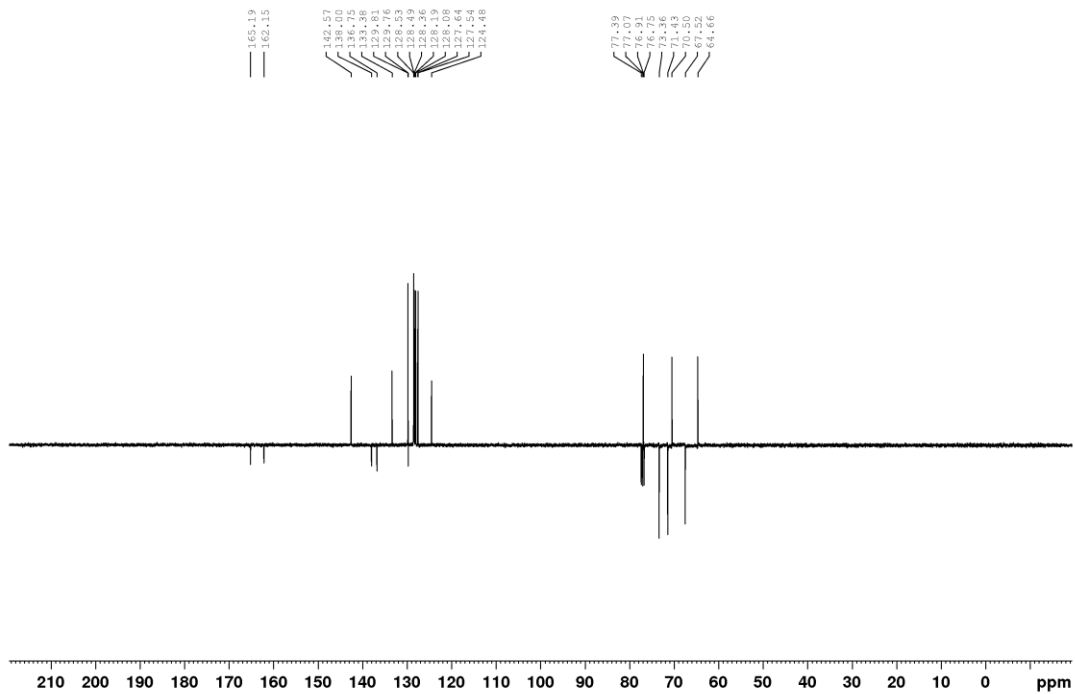
^1H i ^{13}C NMR Spektri jedinjenja 29 (CDCl_3)GBK15D, CDCl_3 , 7.11.16.GBK15D, CDCl_3 , 7.11.16.

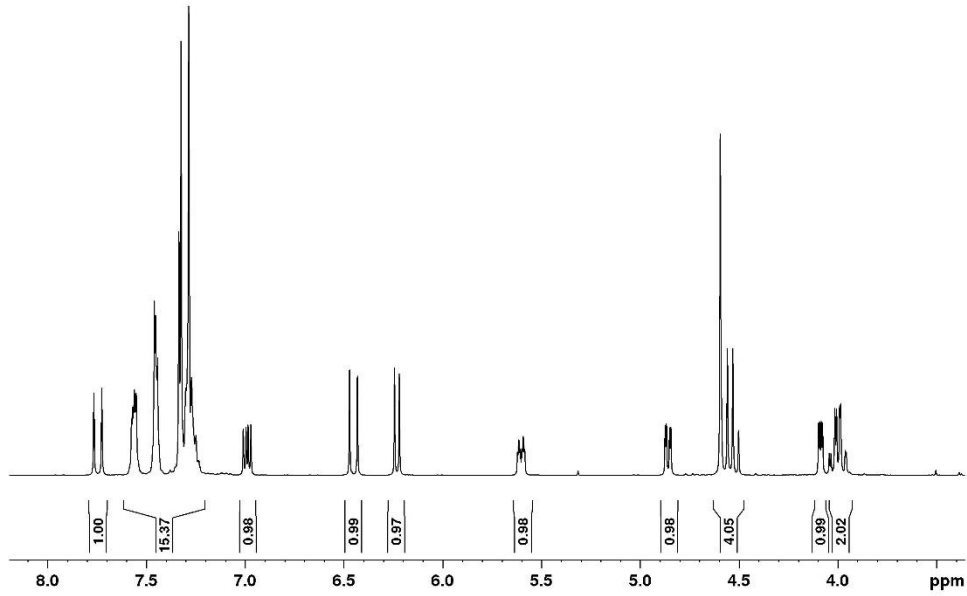
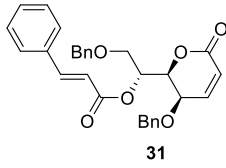
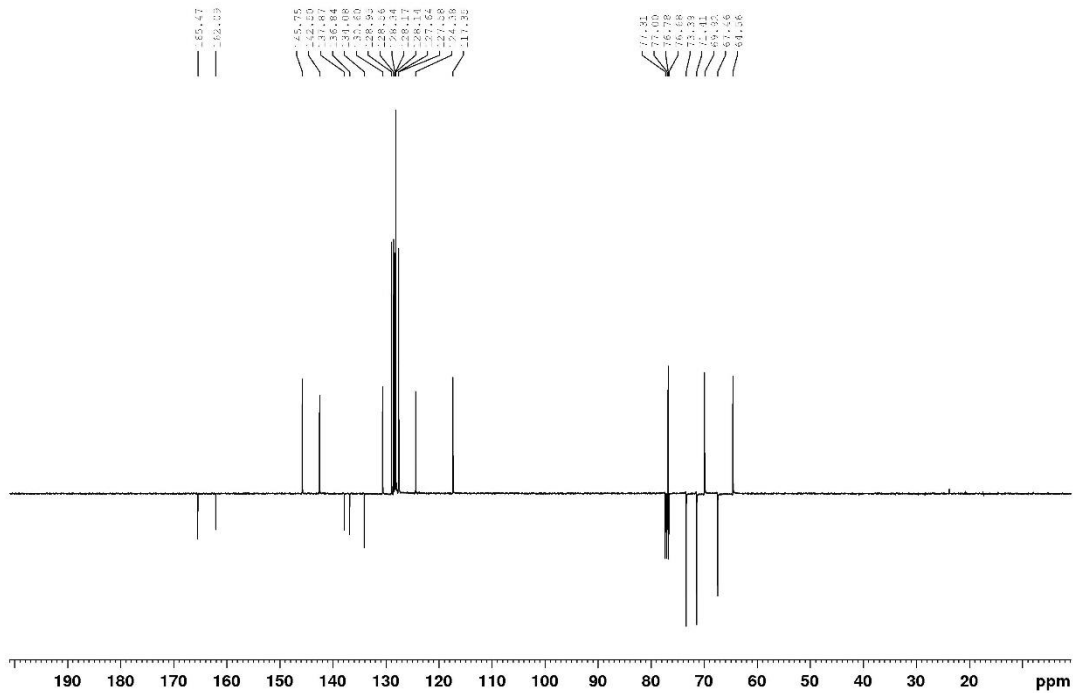
^1H i ^{13}C NMR Spektri jedinjenja 30 (CDCl_3)

GBP1, 11.9.20.CDC13



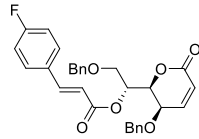
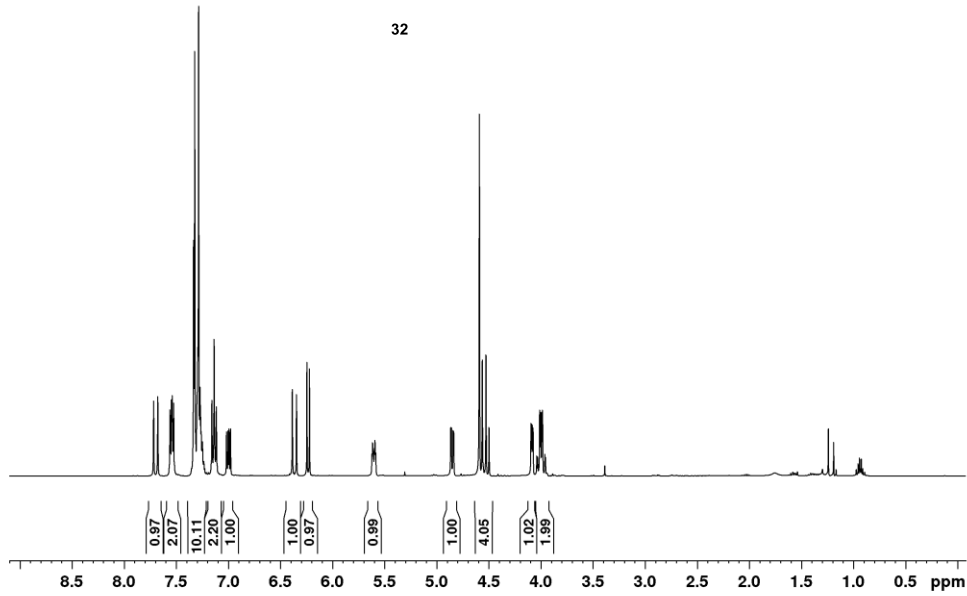
GBP1, 11.9.20.CDC13



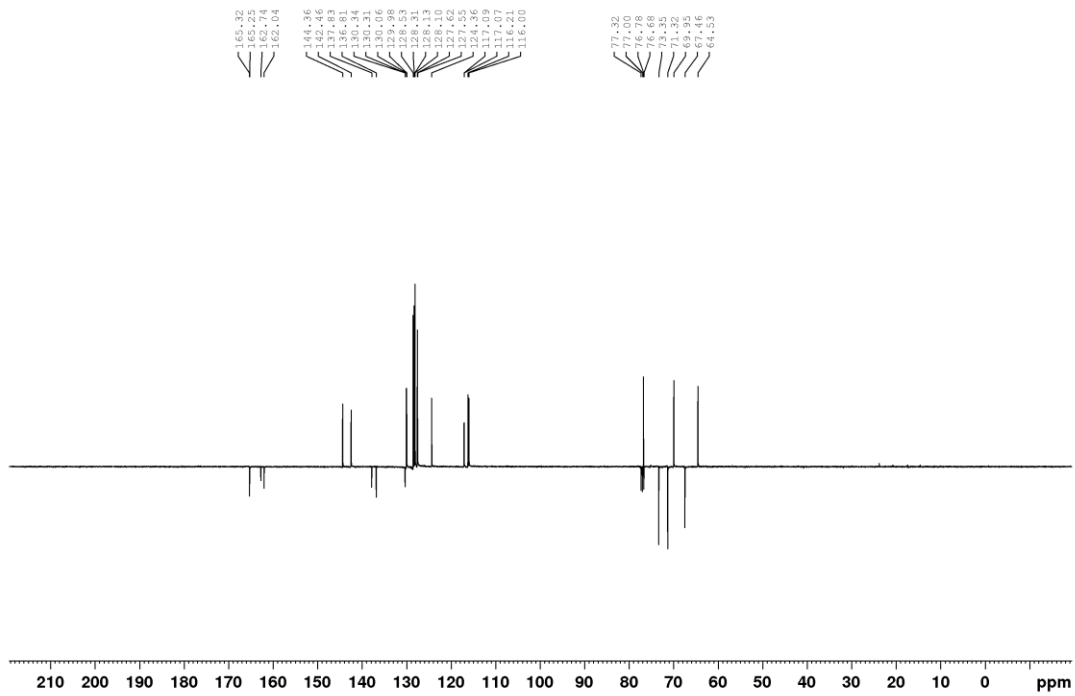
^1H i ^{13}C NMR Spektri jedinjenja 31 (CDCl_3)GBK15DC, CDCl_3 , 20.11.16.GBK15DC, CDCl_3 , 20.11.16.

^1H i ^{13}C NMR Spektri jedinjenja 32 (CDCl_3)

GBK15DF, CDC13, 20.11.16.

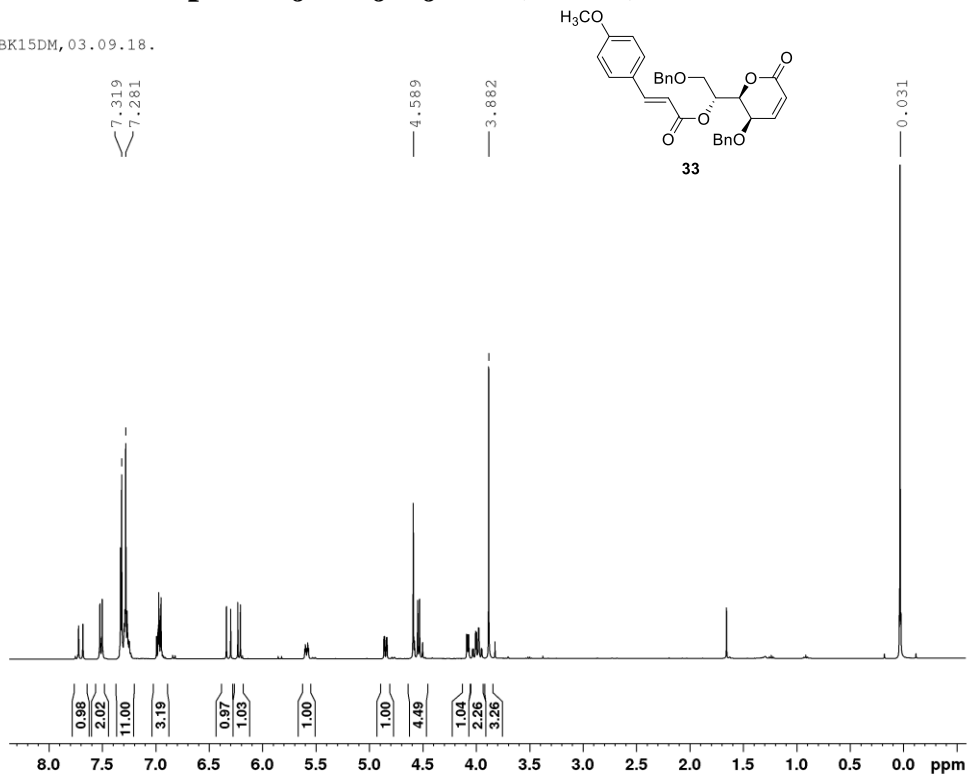
**32**

GBK15DF, CDC13, 20.11.16.

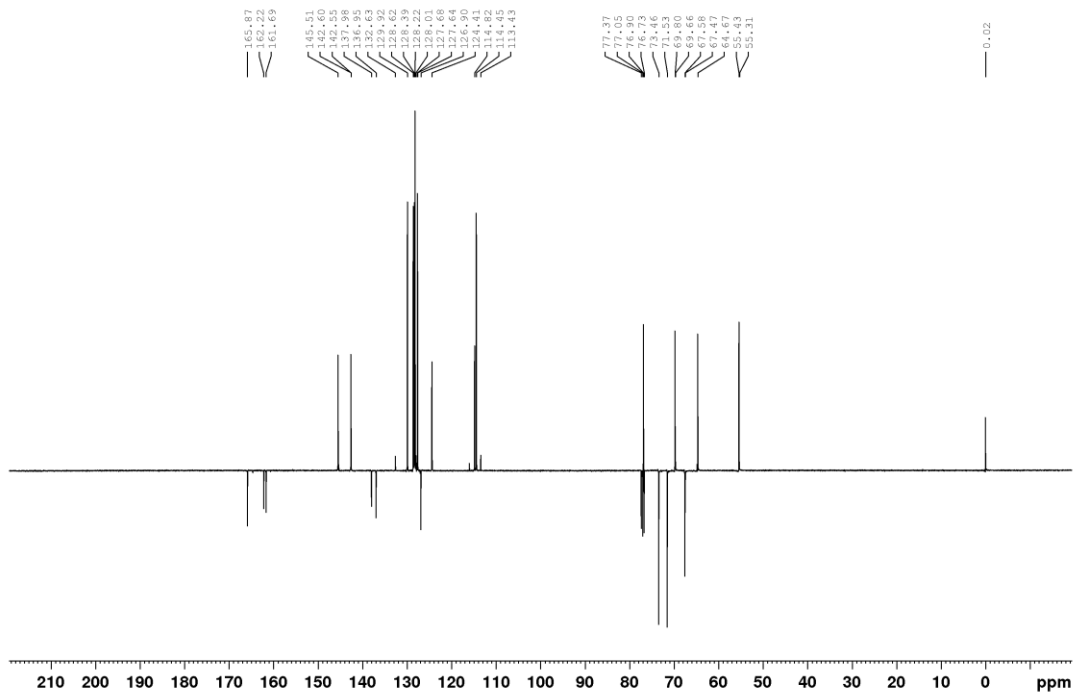


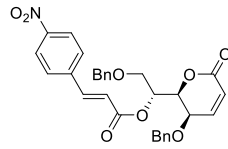
^1H i ^{13}C NMR Spektri jedinjenja 33 (CDCl_3)

GBK15DM, 03.09.18.

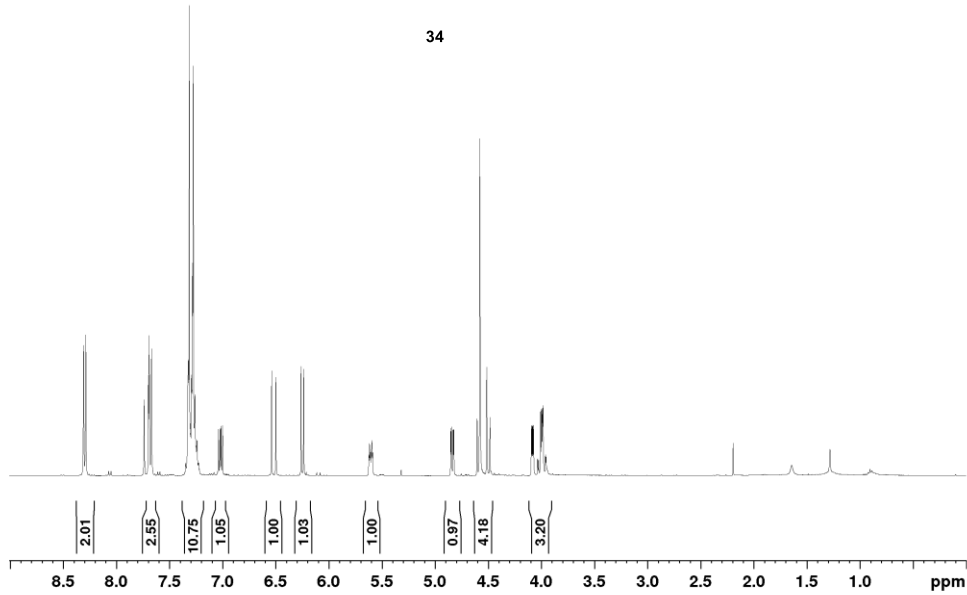
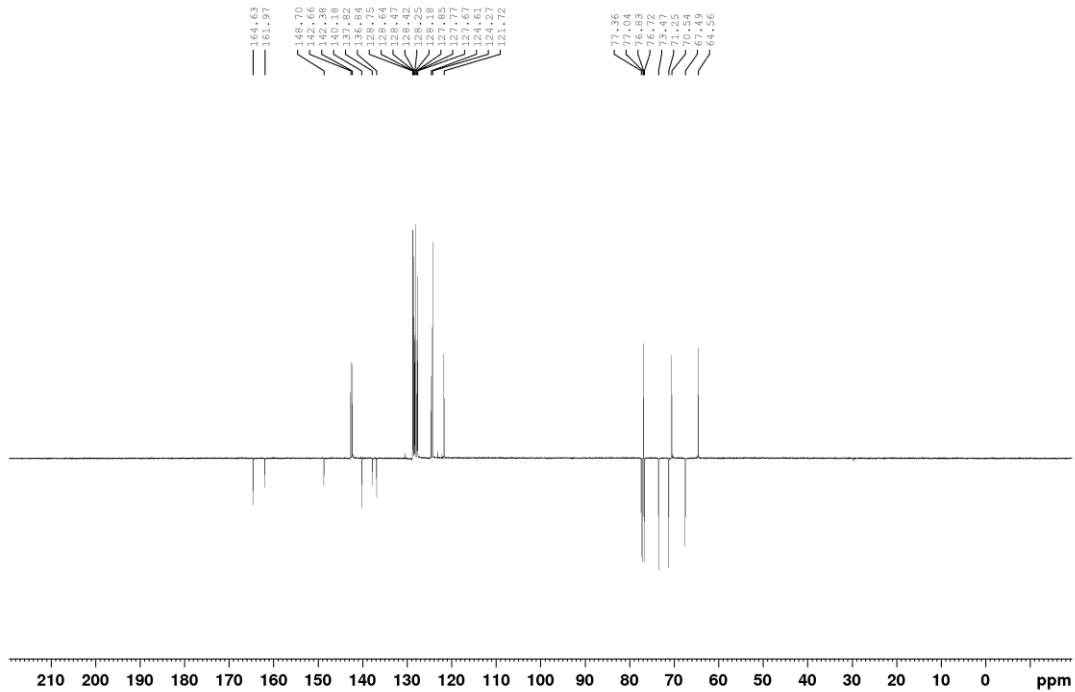


GBK15DM, 03.09.18.



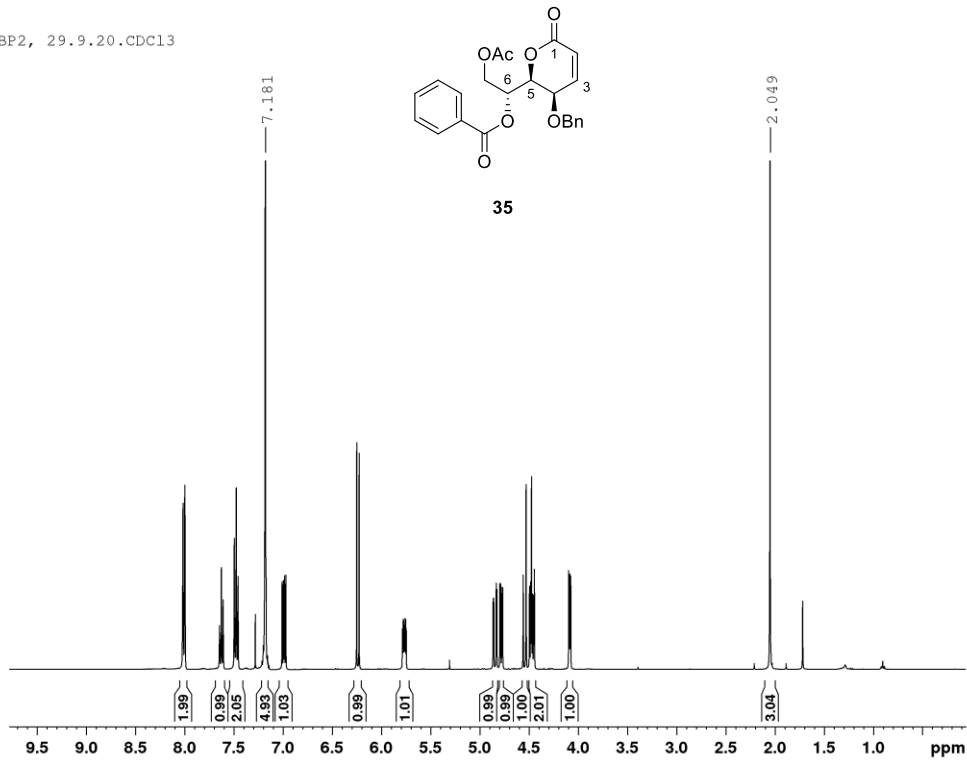
^1H i ^{13}C NMR Spektri jedinjenja 34 (CDCl_3)GBK15D1, CDCl_3 .15.11.16.

34

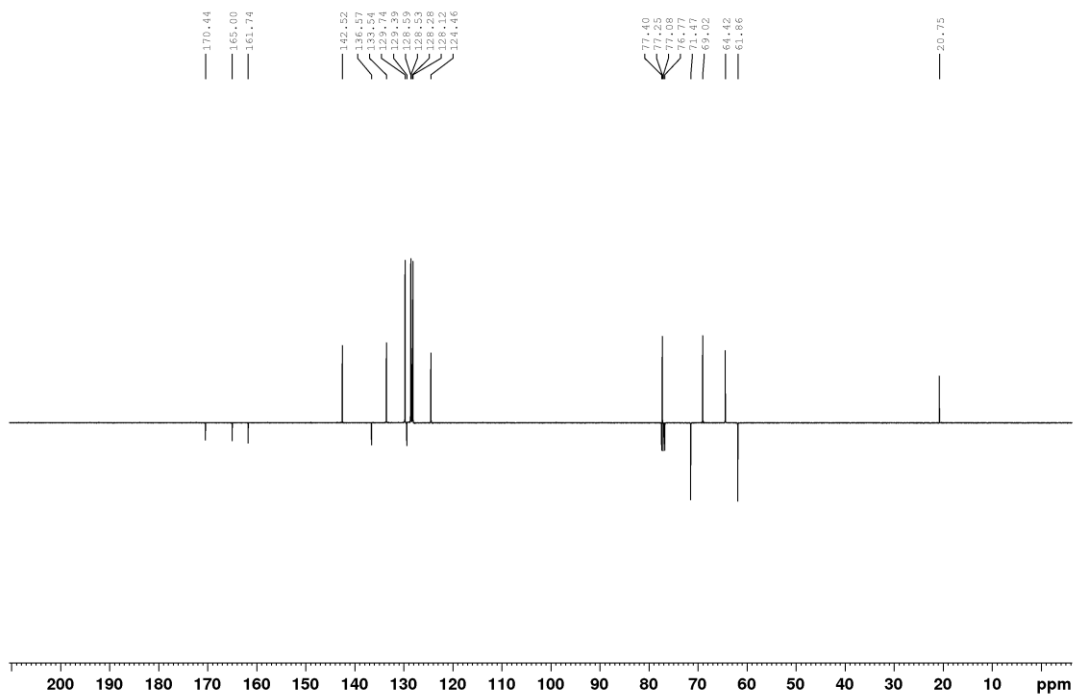
GBK15D1, CDCl_3 .15.11.16.

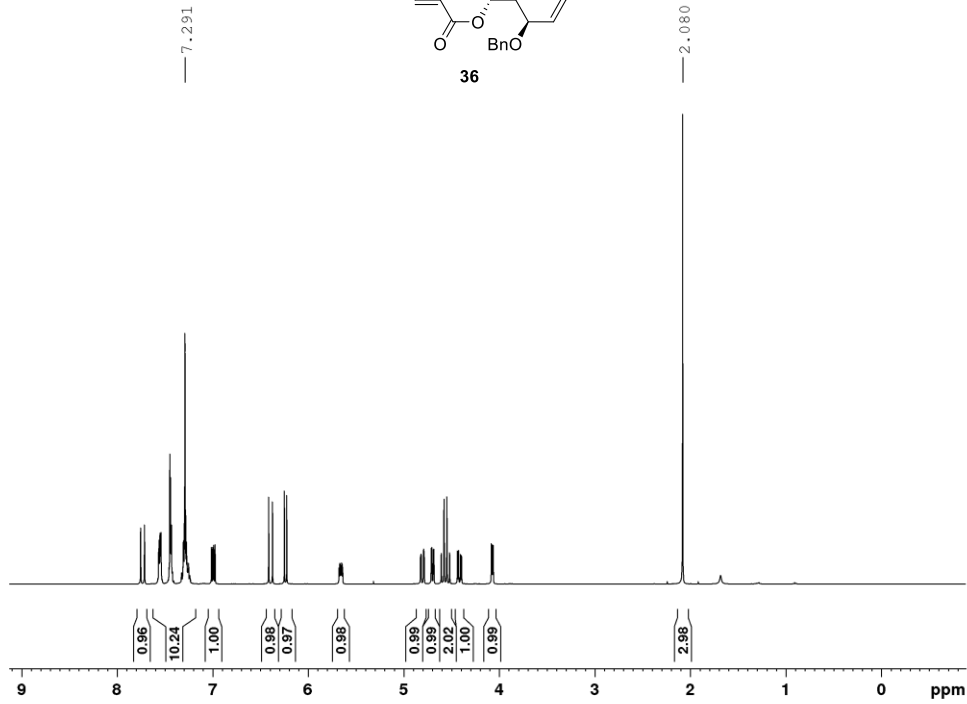
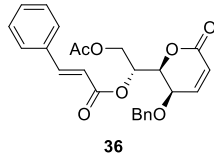
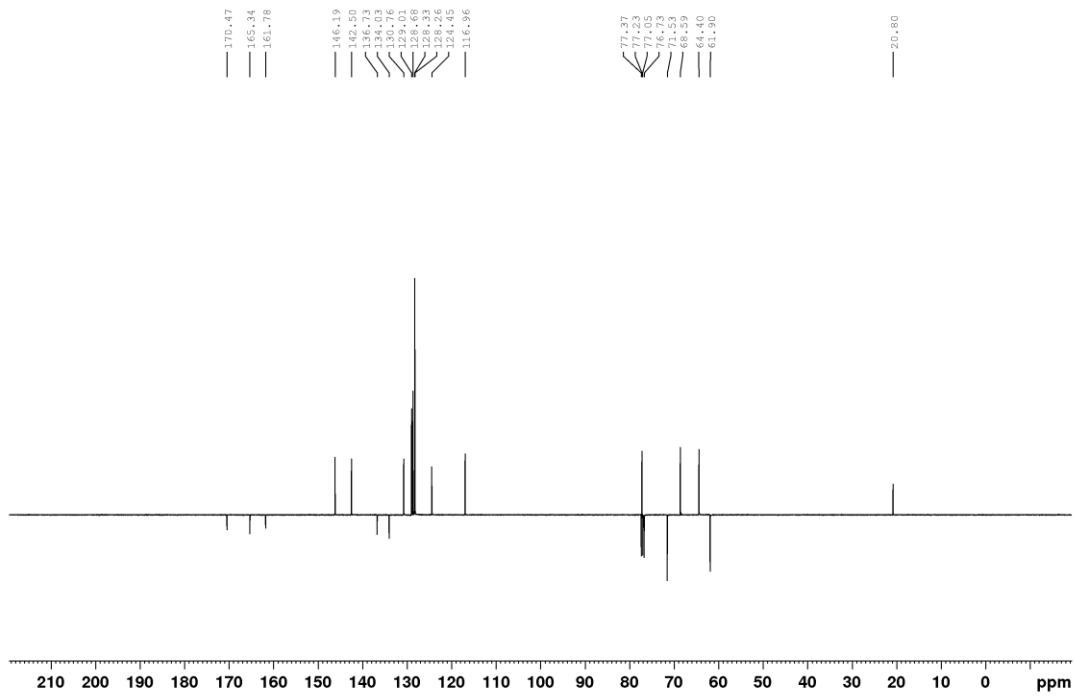
^1H i ^{13}C NMR Spektri jedinjenja 35 (CDCl_3)

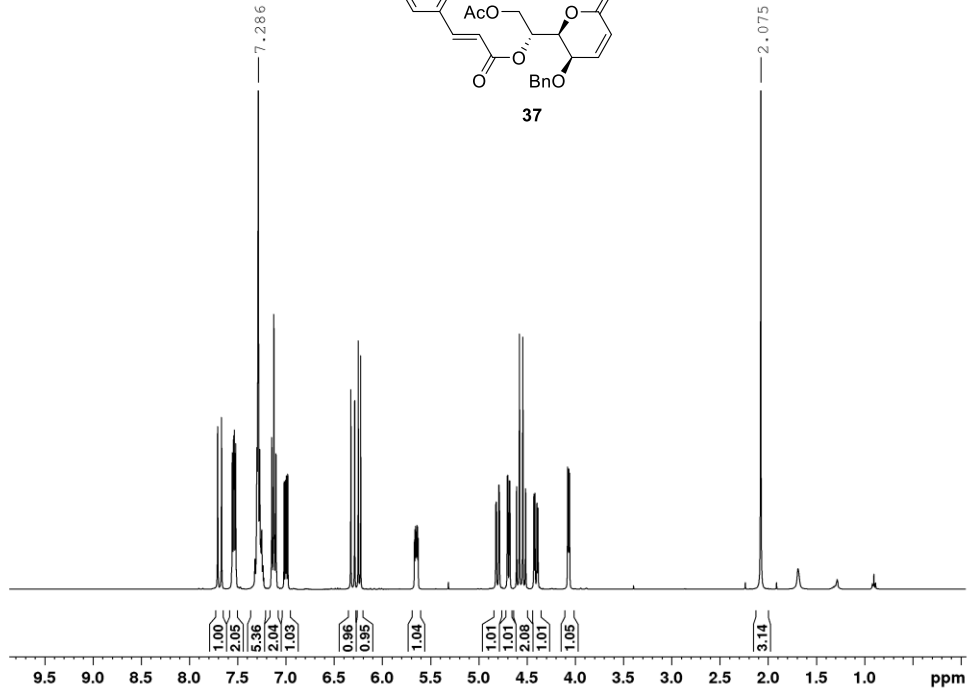
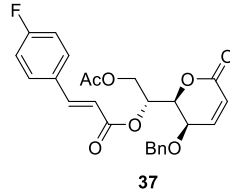
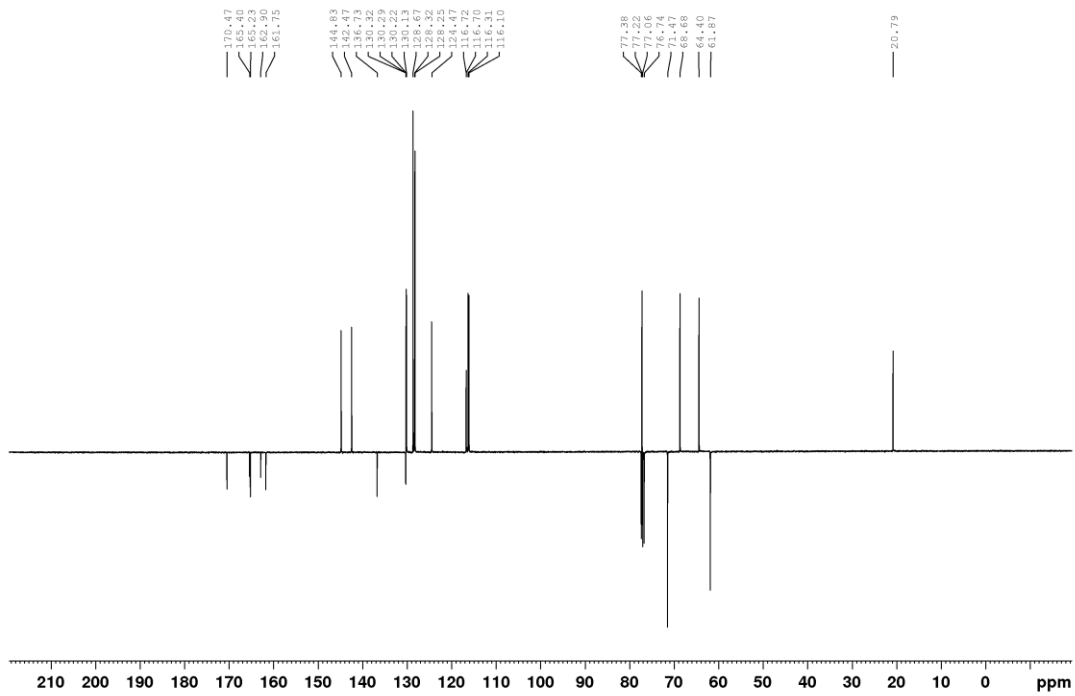
GBP2, 29.9.20.CDC13

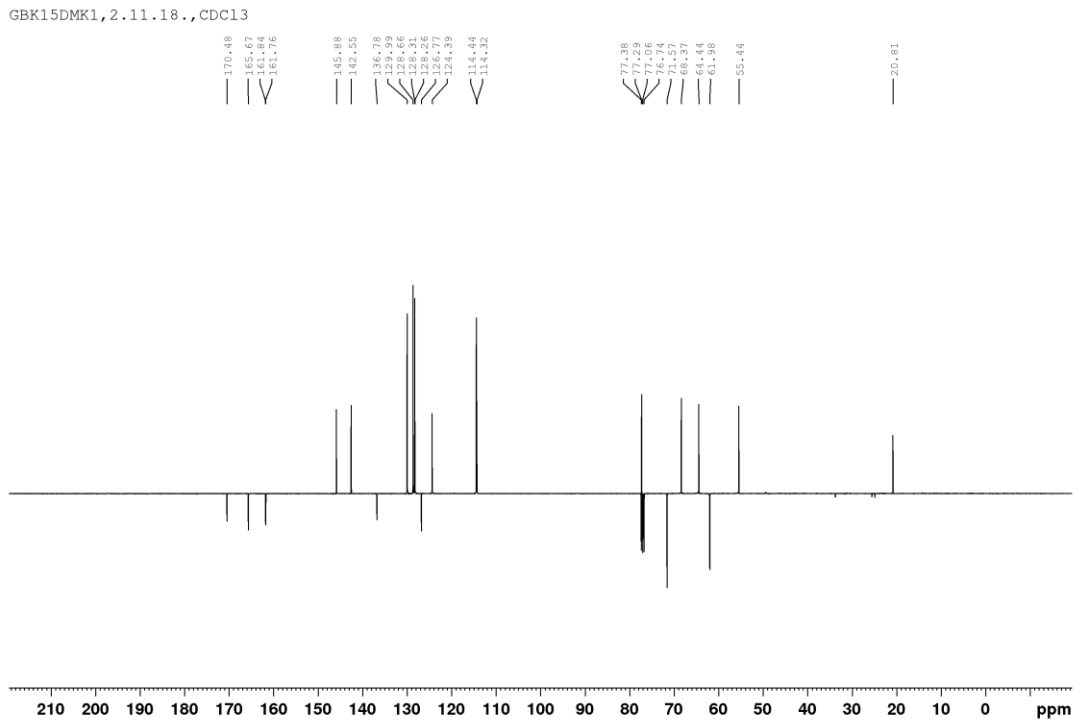
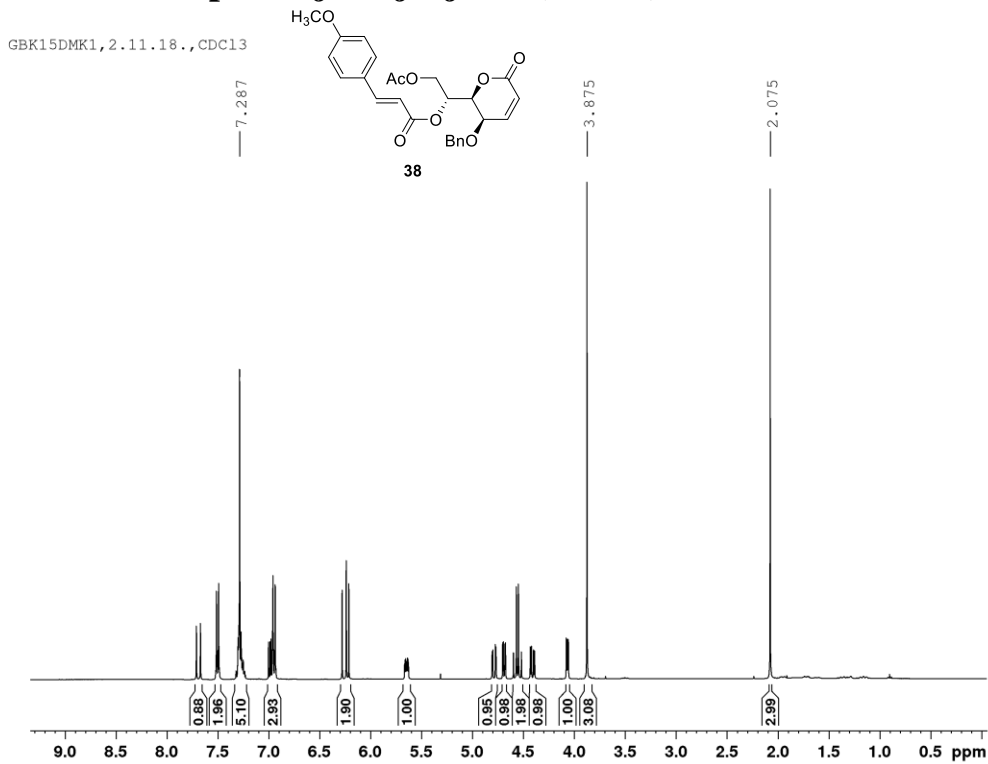


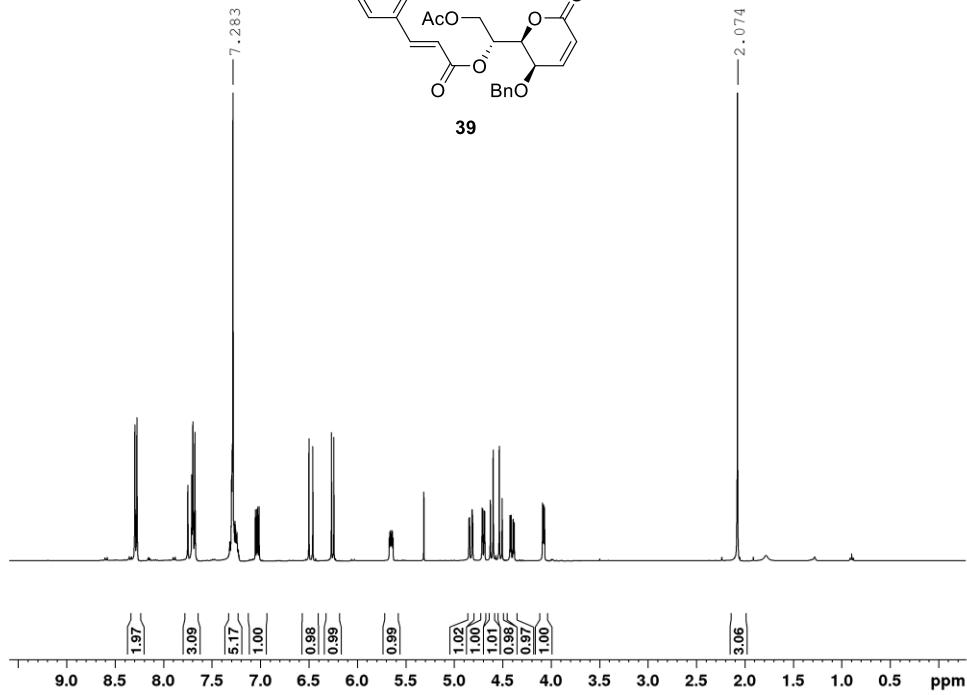
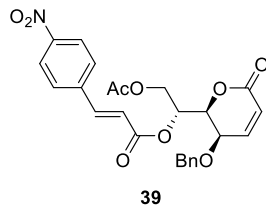
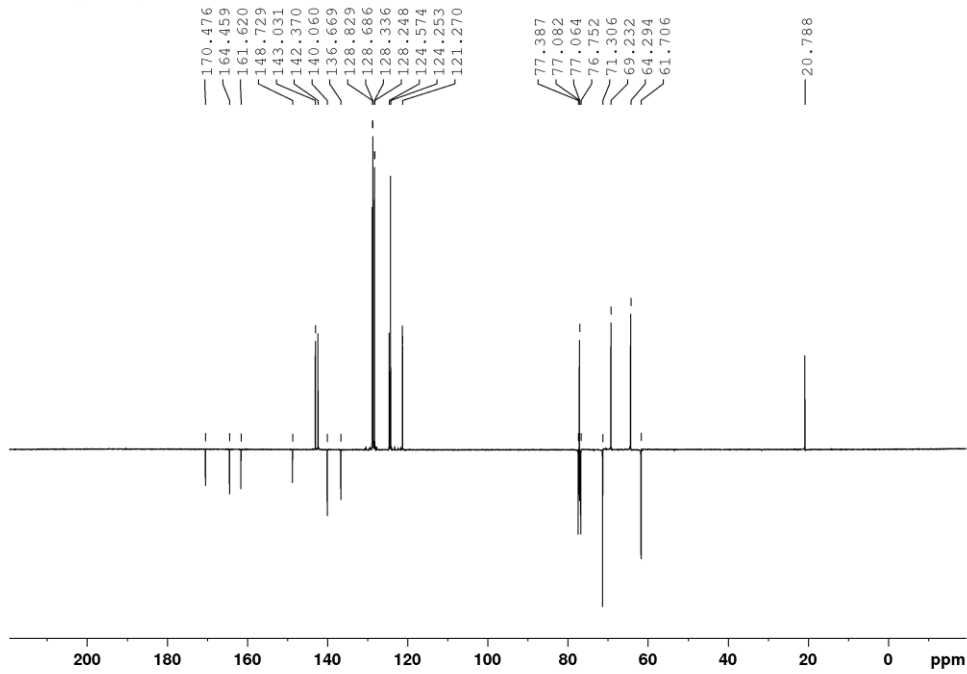
GBP2, 29.9.20.CDC13



^1H i ^{13}C NMR Spektri jedinjenja 36 (CDCl_3)GBK15DCK, 23.10.18, CDCl_3 GBK15DCK, 23.10.18, CDCl_3 

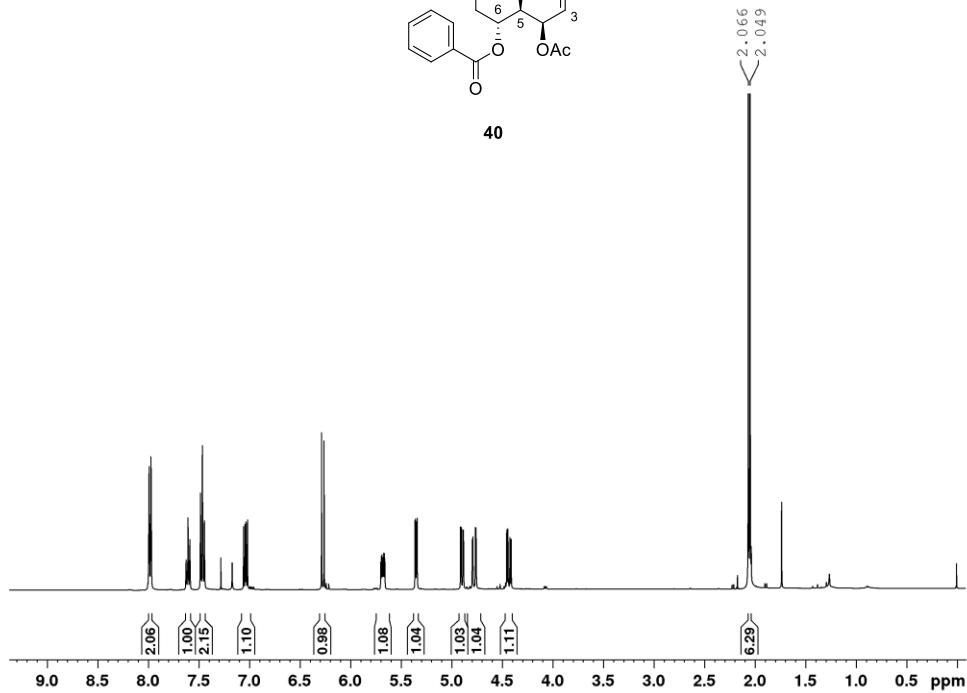
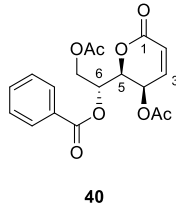
^1H i ^{13}C NMR Spektri jedinjenja 37 (CDCl_3)GBK15DF11, CDCl_3 , 19.11.18.GBK15DF11, CDCl_3 , 19.11.18.

^1H i ^{13}C NMR Spektri jedinjenja 38 (CDCl_3)

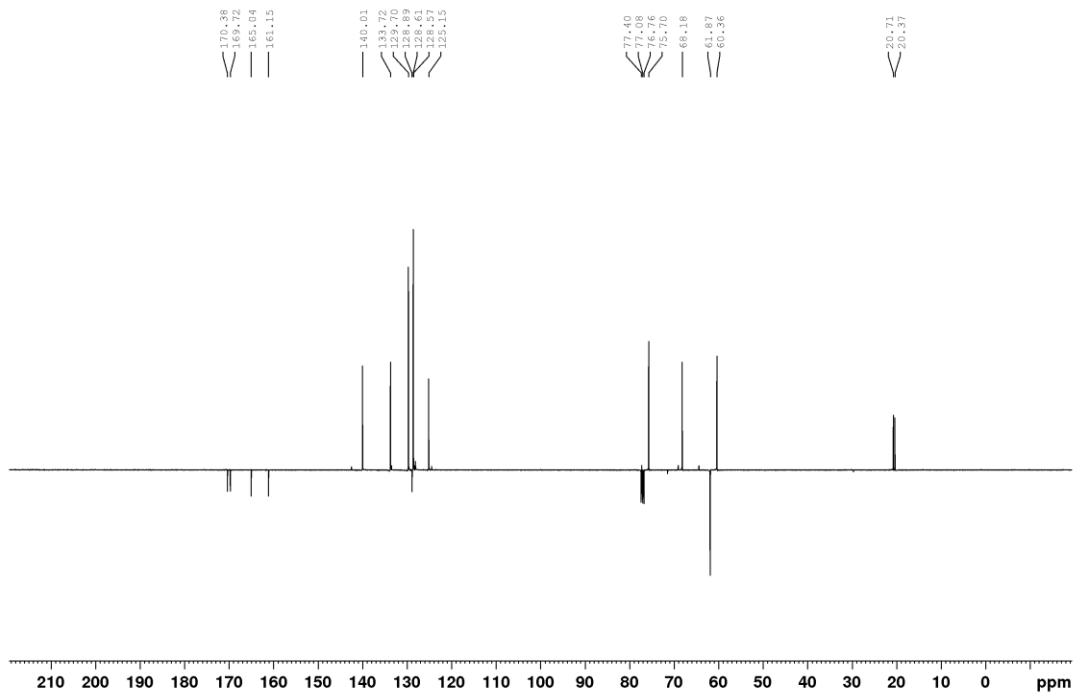
^1H i ^{13}C NMR Spektri jedinjenja 39 (CDCl_3)GBK15D1K1, CDCl_3 , 13.11.18GBK15D1K1, CDCl_3 , 13.11.18

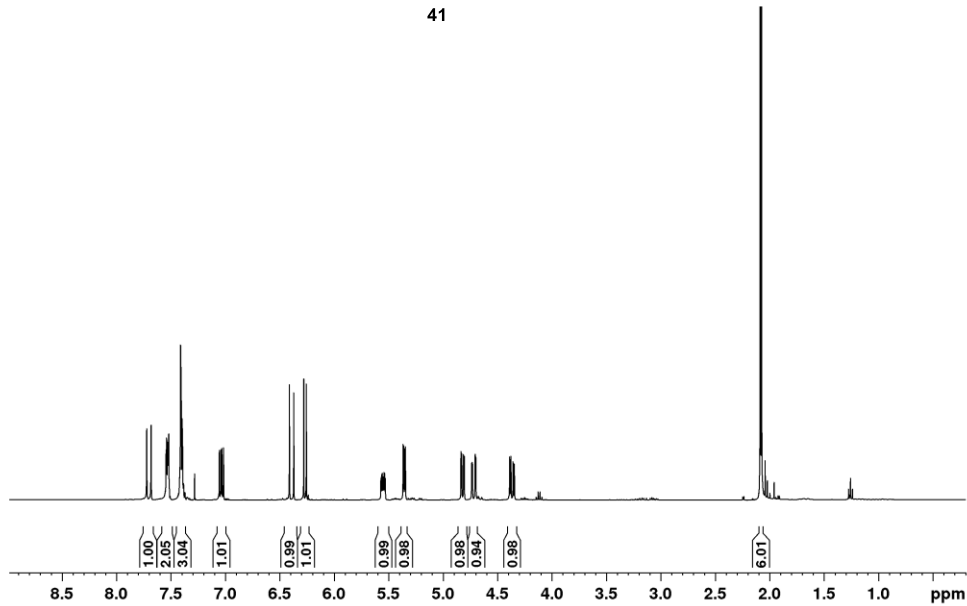
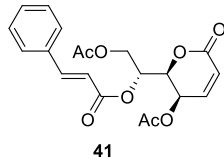
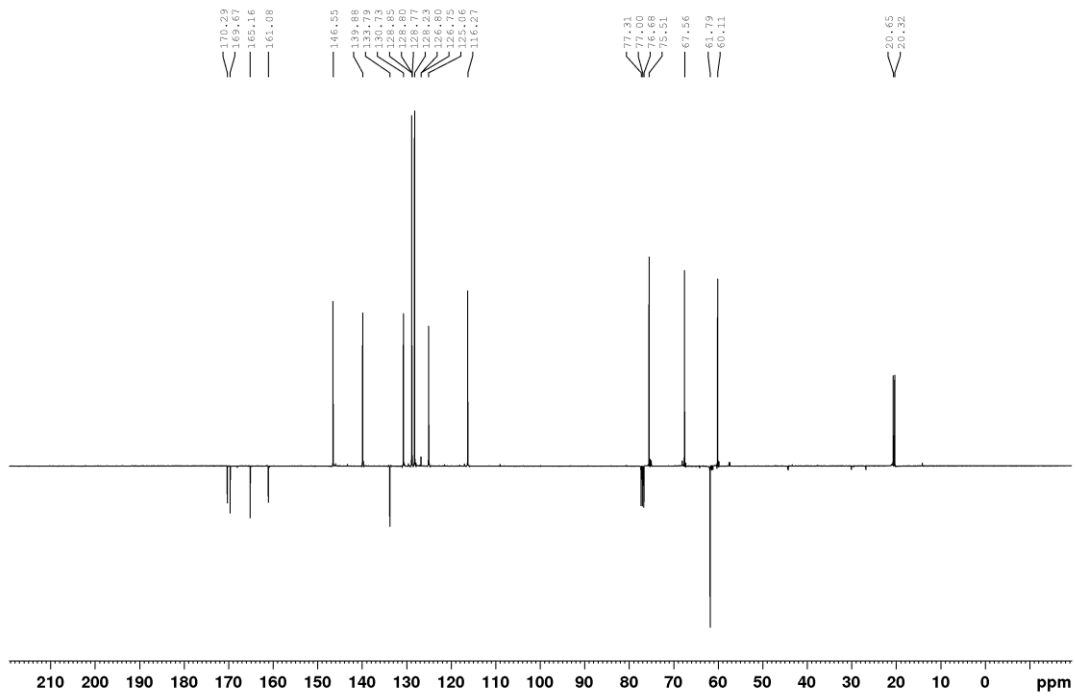
^1H i ^{13}C NMR Spektri jedinjenja 40 (CDCl_3)

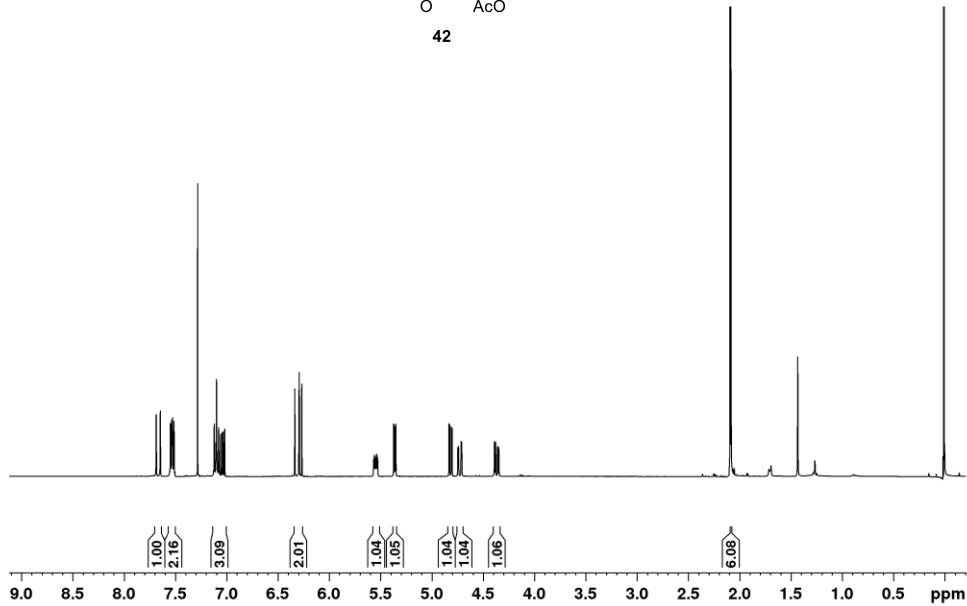
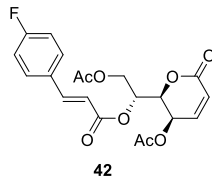
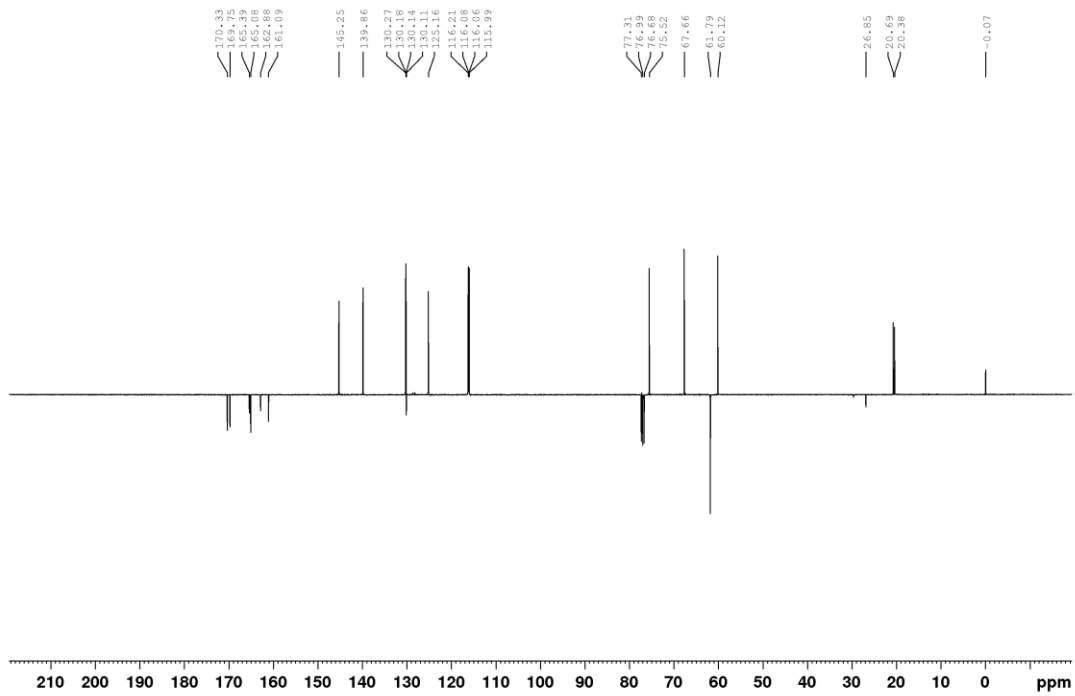
GBP3, 28.9.20.CDC13

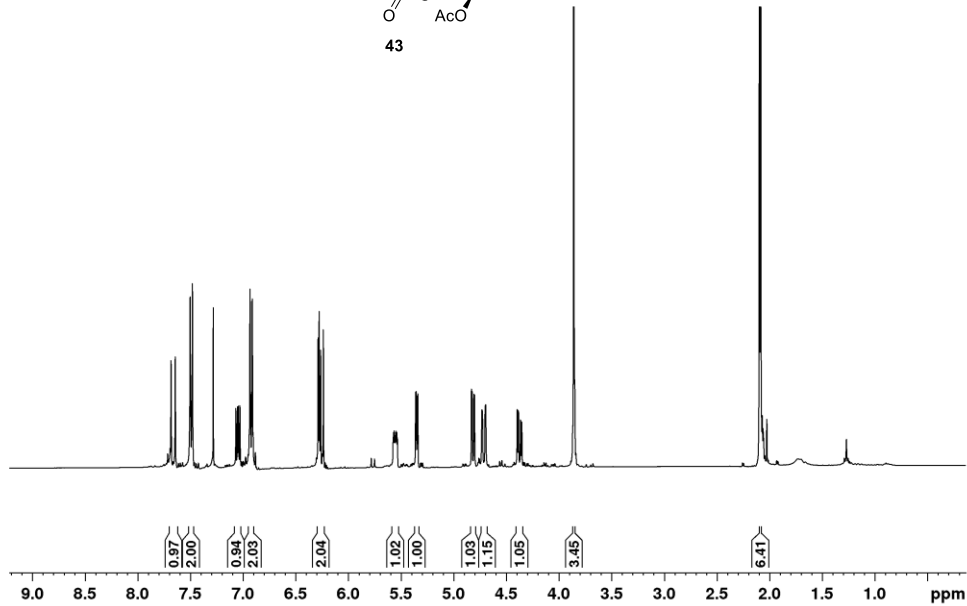
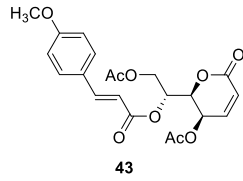
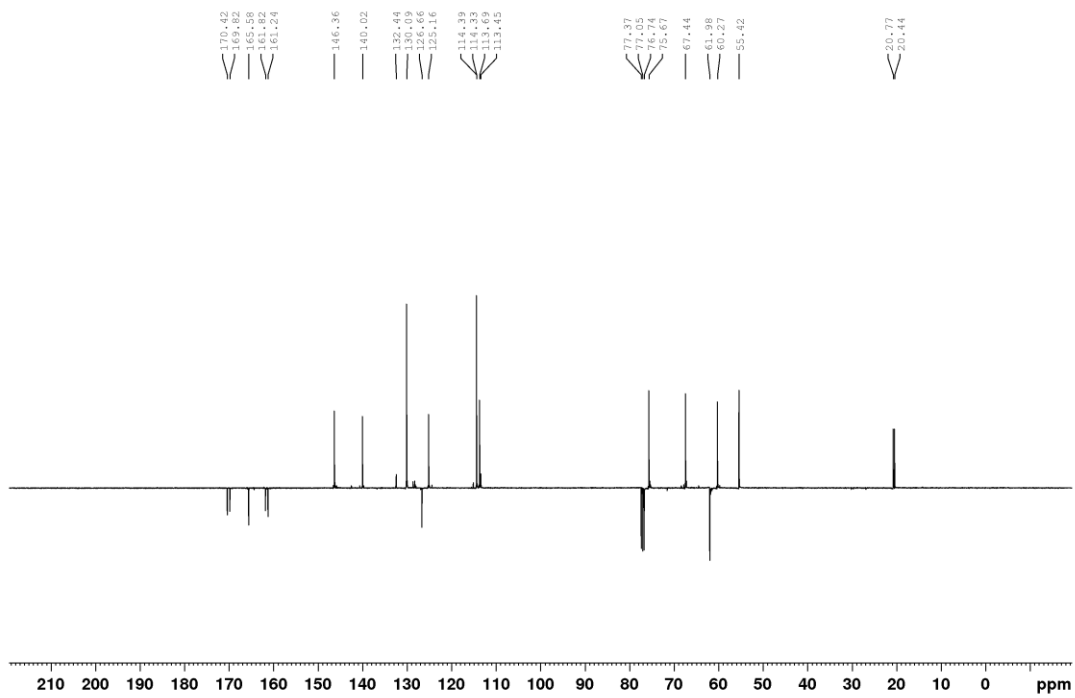


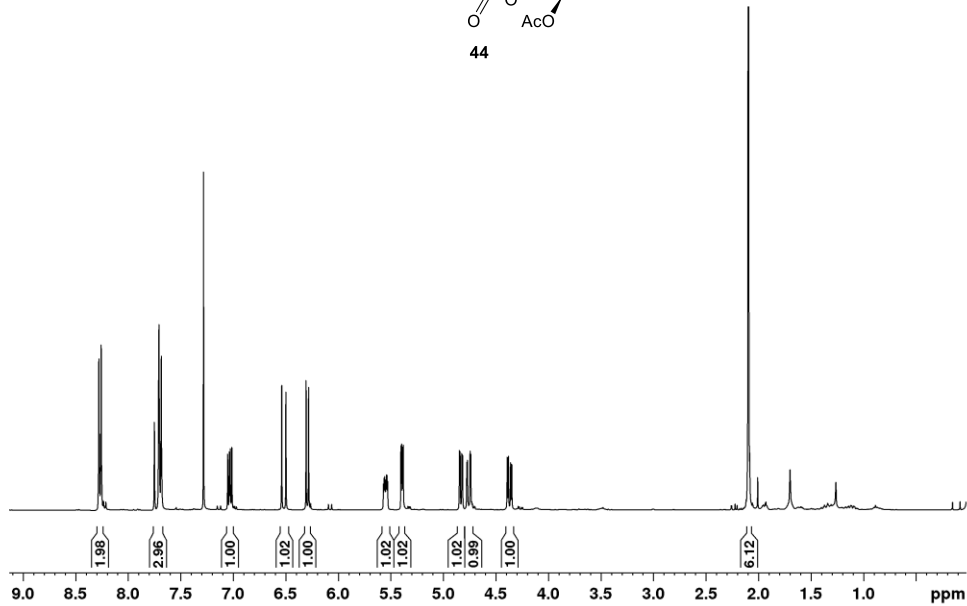
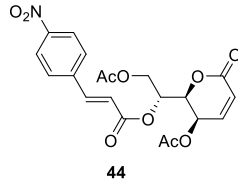
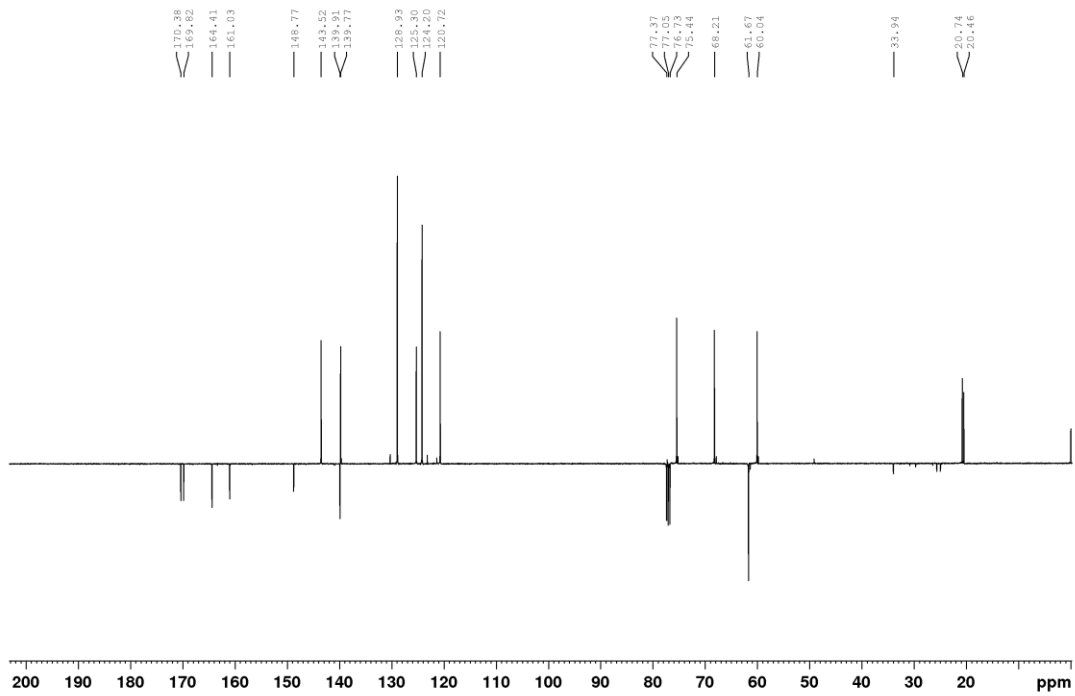
GBP3, 28.9.20.CDC13



^1H i ^{13}C NMR Spektri jedinjenja 41 (CDCl_3)GBK15DCK, 16.10.18, CDCl_3 GBK15DCK, 16.10.18, CDCl_3 

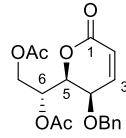
^1H i ^{13}C NMR Spektri jedinjenja 42 (CDCl_3)GBK15DF1, CDCl_3 , 28.1.19.GBK15DF1, CDCl_3 , 28.1.19.

^1H i ^{13}C NMR Spektri jedinjenja 43 (CDCl_3)GBK15DMK, CDCl_3 , 22.10.11.GBK15DMK, CDCl_3 , 22.10.11.

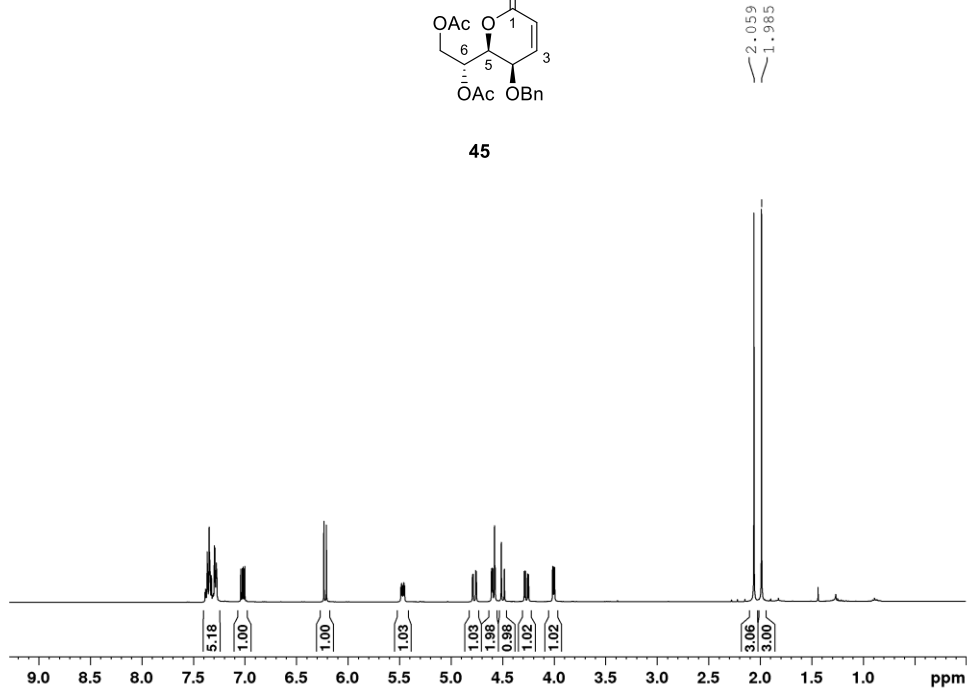
^1H i ^{13}C NMR Spektri jedinjenja 44 (CDCl_3)GBK15D1K, CDCl_3 , 1.2.19.GBK15D1K, CDCl_3 , 1.2.19.

^1H i ^{13}C NMR Spektri jedinjenja 45 (CDCl_3)

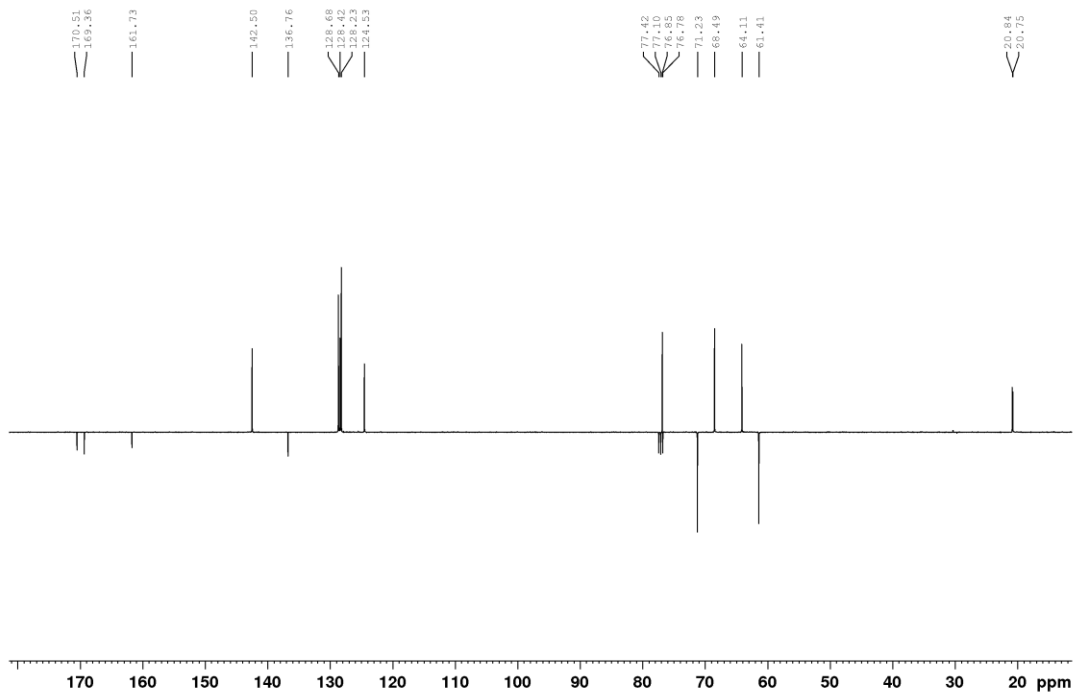
GBP4A, 8.12.20.CDC13

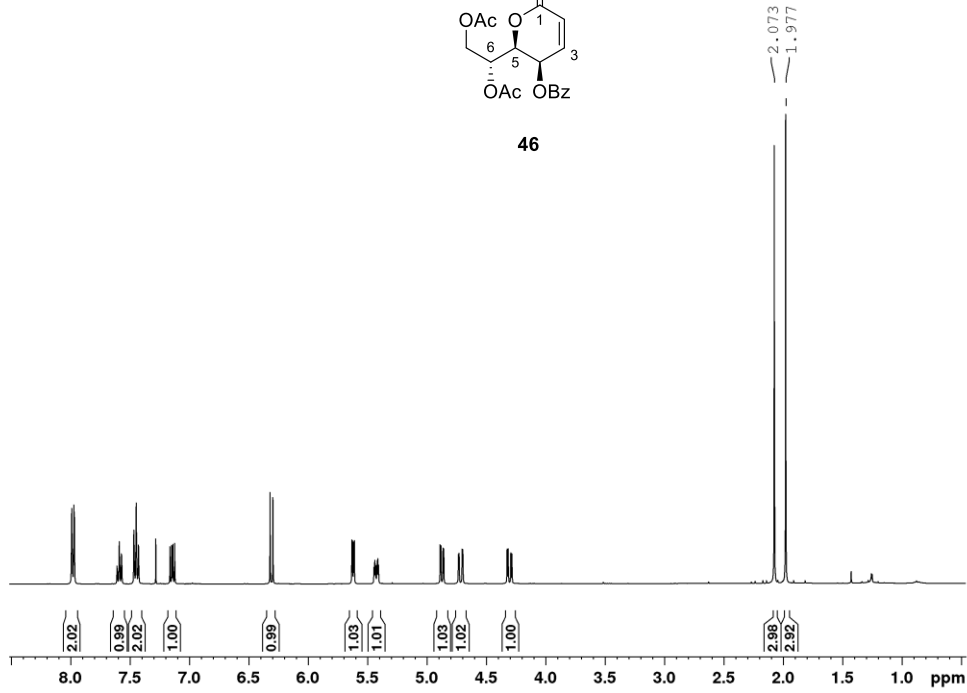
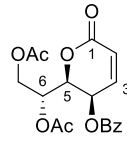
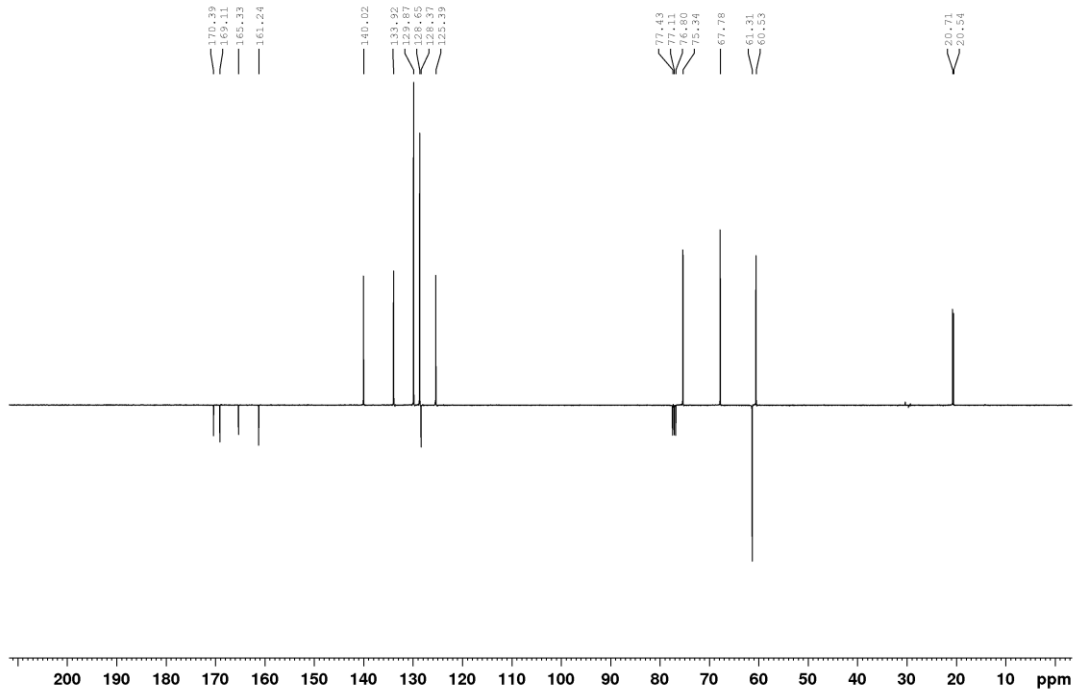


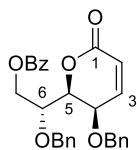
45



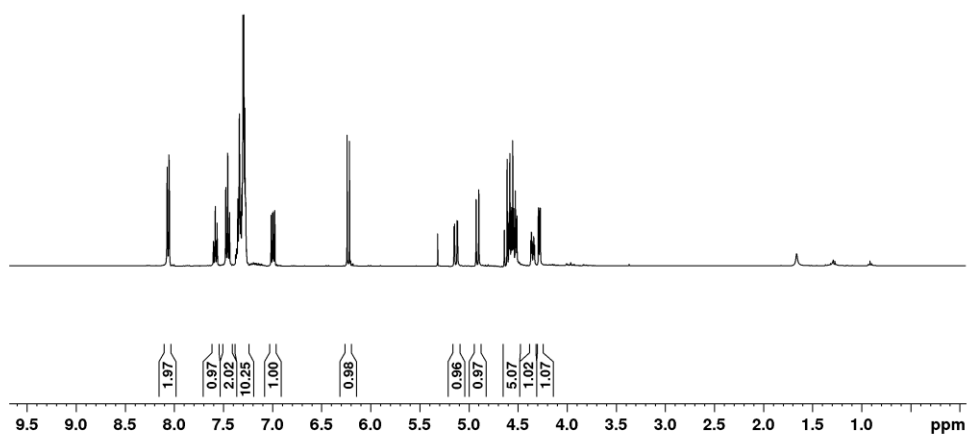
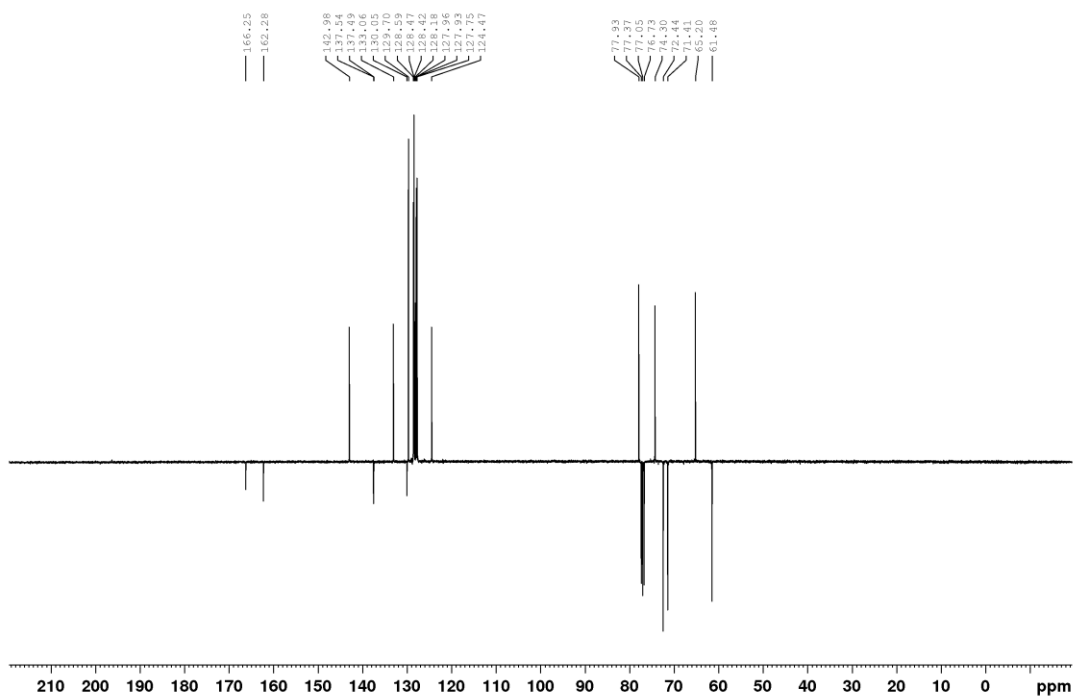
GBP4A, 8.12.20.CDC13



^1H i ^{13}C NMR Spektri jedinjenja 46 (CDCl_3)GBP5, CDCl_3 , 21.12.20.GBP5, CDCl_3 , 21.12.20.

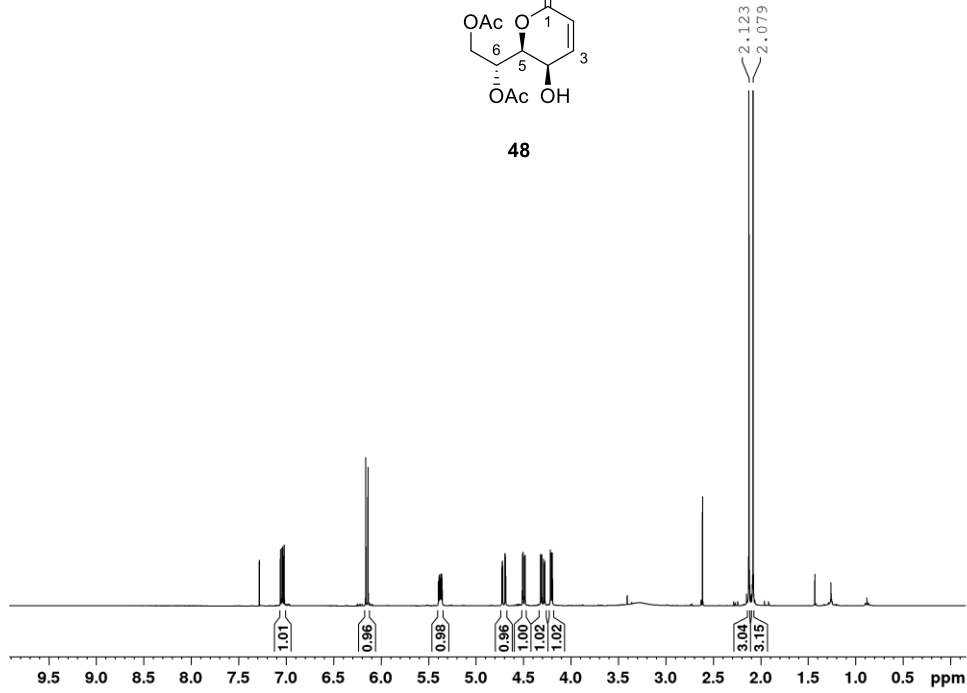
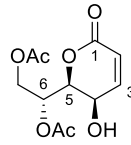
^1H i ^{13}C NMR Spektri jedinjenja 47 (CDCl_3)GBP7, CDCl_3 , 22.1.21.

47

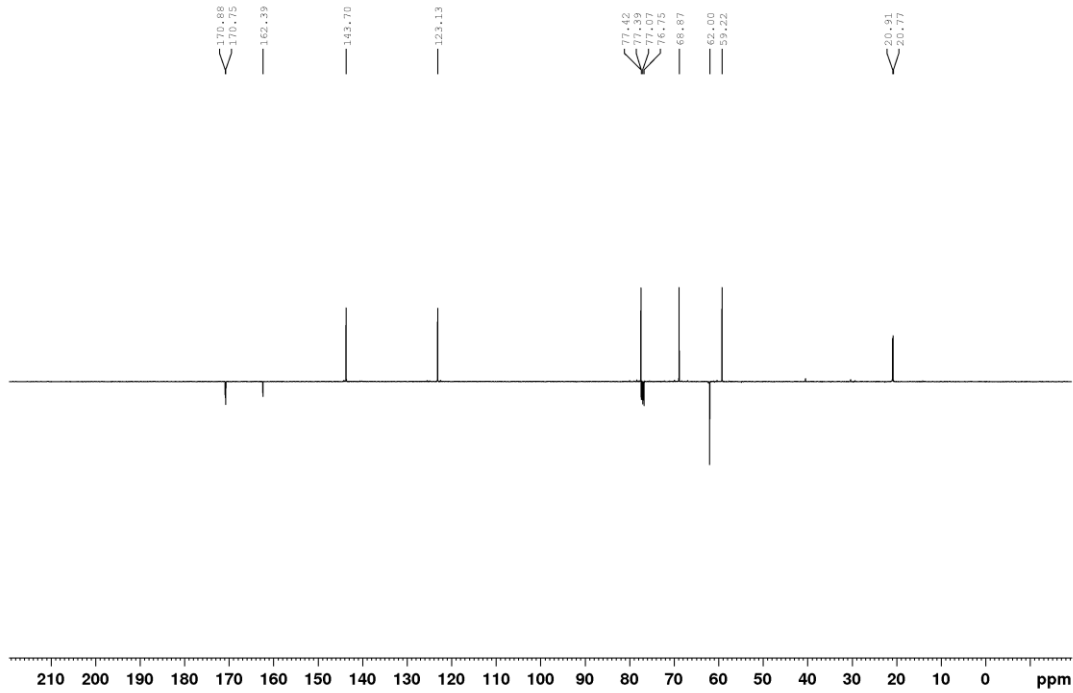
GBP7, CDCl_3 , 22.1.21.

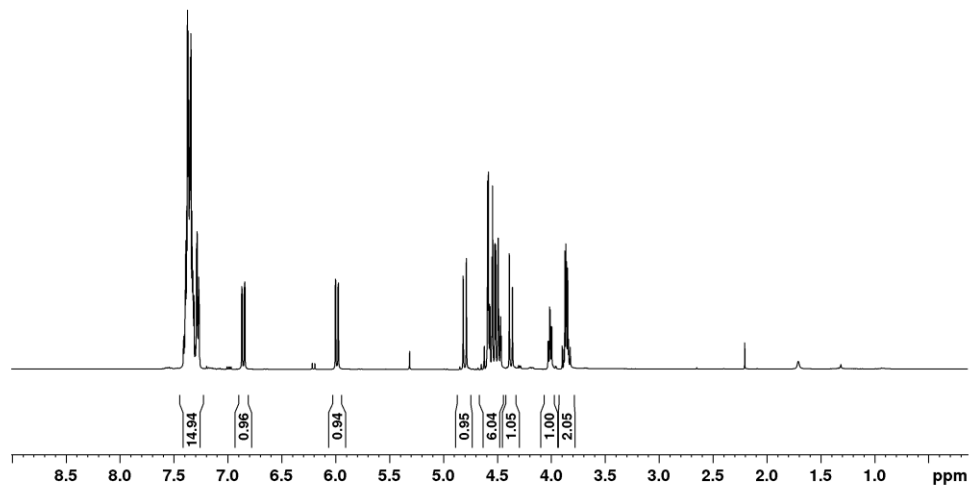
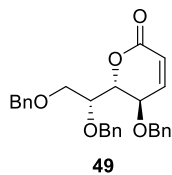
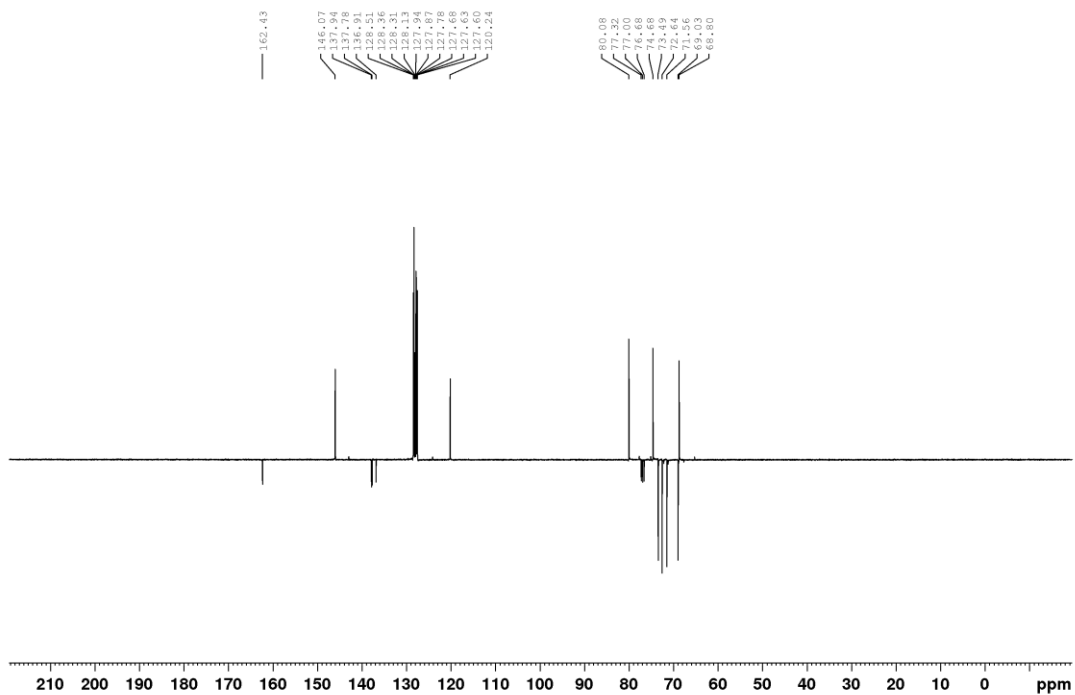
^1H i ^{13}C NMR Spektri jedinjenja 48 (CDCl_3)

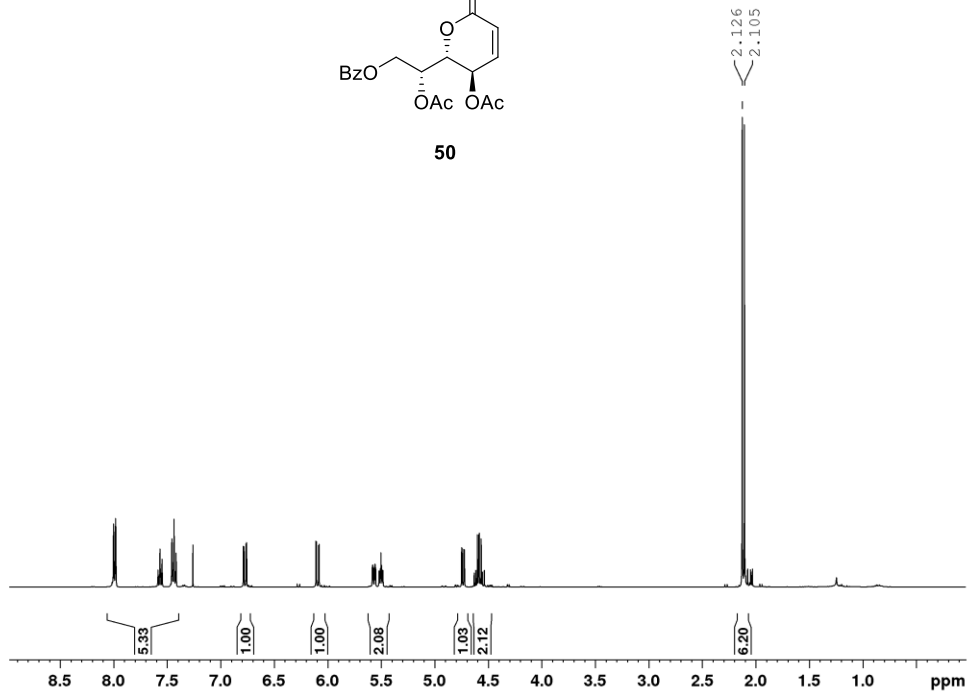
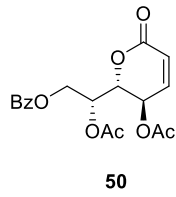
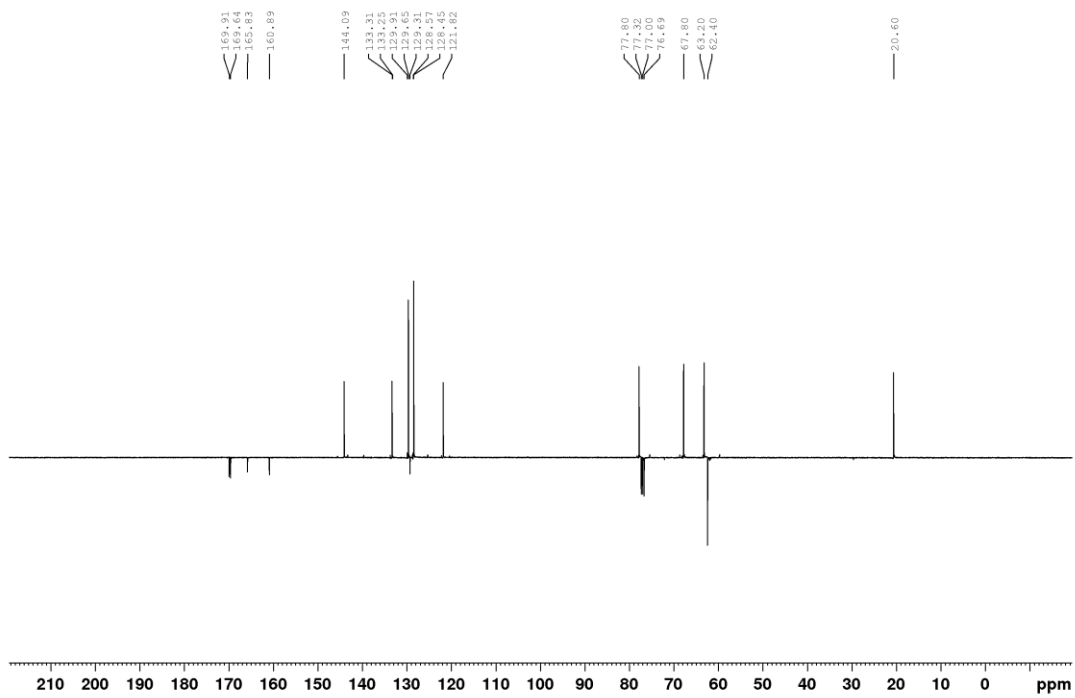
GBP6, dva puta precisceno, 9.02.21.



GBP6, dva puta precisceno, 9.02.21.



^1H i ^{13}C NMR Spektri jedinjenja 49 (CDCl_3)GBK15L, CDCl_3 .10.3.17.GBK15L, CDCl_3 .23.3.17.

^1H i ^{13}C NMR Spektri jedinjenja 50 (CDCl_3)GBK3E, CDCl_3 , 29.3.17.GBK3E, CDCl_3 , 29.3.17.

10 BIOGRAFIJA



Šandor Farkaš je rođen 12.03.1994. godine u Senti, u Srbiji. Osnovnu školu je završio u Senti 2009. godine. Tokom 2013. godine maturirao je na opštem smeru u Senćanskoj gimnaziji. Iste godine je upisao studije na Prirodno-matematičkom fakultetu u Novom Sadu, na odseku Biohemija. Osnovne studije je završio 2017. godine sa prosečnom ocenom 8,36 i iste godine nastavio studije na smeru master biohemije. Master akademske studije završio je 2018. godine sa prosekom 10,00 i iste godine upisao doktorske akademske studije biohemije. Tokom 2019. godine izabran je za istraživača-pripravnika iz oblasti biohemije. Koautor je u tri naučna rada u međunarodnim časopisima kategorija M21 (jedan rad), M22 (jedan rad) i M23 (jedan rad).

Farkas Sándor

U NOVOM SADU,

Jul, 2023. godine

План третмана података

Назив пројекта/истраживања
Синтеза и биолошка активност (–)-клеистенолида и његових аналога
Назив институције/институција у оквиру којих се спроводи истраживање
Природно – математички факултет, Универзитет у Новом Саду
Назив програма у оквиру ког се реализује истраживање
Докторске академски студије, смер Биохемија
1. Опис података
<p>1.1 Врста студије</p> <p>Укратко описати тип студије у оквиру које се подаци прикупљају</p> <p>Експериментална студија</p> <p>1.2 Врсте података</p> <p>а) квантитативни</p> <p>б) квалитативни</p> <p>1.3. Начин прикупљања података</p> <p>а) анкете, упитници, тестови</p> <p>б) клиничке процене, медицински записи, електронски здравствени записи</p> <p>в) генотипови: навести врсту</p> <p>г) административни подаци: навести врсту</p> <p>д) узорци ткива: навести врсту</p> <p>ђ) снимци, фотографије: навести врсту</p> <p>е) текст, навести врсту</p> <p>ж) мапа, навести врсту</p> <p>з) остало: описати : органска синтеза, испитивање биолошке активности новосинтетизованих аналога: антипролиферативна активност на малигне ћелијске линије и антимикуробна активност на грам позитивне бактерије - <i>Staphylococcus aureus</i> (NCTC 6571) и <i>Listeria monocytogenes</i> (NCTC 11994), грам негативне бактерије - <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 10332) и <i>Klebsiella pneumoniae</i> (ATCC ВАА 2146), и гљивицу <i>Candida albicans</i> (ATCC 10231).</p> <p>1.3 Формат података, употребљене скале, количина података</p> <p>1.3.1 Употребљени софтвер и формат датотеке:</p> <p>а) Excel фајл, датотека</p> <p>б) SPSS фајл, датотека</p> <p>с) PDF фајл, датотека</p> <p>д) Текст фајл, датотека</p> <p>е) JPG фајл, датотека</p> <p>ф) Остало, датотека .cdxml ChemDraw фајлови</p> <p>1.3.2. Број записа (код квантитативних података)</p>

- а) број варијабли **велики број варијабли**
 б) број мерења (испитаника, процена, снимака и сл.) **се разликовао код различитих параметара и био је у већем броју понављања. Број мерења је описан у дисертацији за сваки параметар.**

1.3.3. Поновљена мерења

- а) да
 б) **не**

Уколико је одговор да, одговорити на следећа питања:

- а) временски размак између поновљених мера је _____
 б) варијабле које се више пута мере односе се на _____
 в) нове верзије фајлова који садрже поновљена мерења су именоване као _____

Напомене: _____

Да ли формати и софтвер омогућавају дељење и дугорочну валидност података?

- а) **Да**
 б) **Не**

Ако је одговор не, образложити

2. Прикупљање података

2.1 Методологија за прикупљање/генерисање података

2.1.1. У оквиру ког истраживачког нацрта су подаци прикупљени?

- а) експеримент, навести тип: Нацрт истраживања је да на основи већ познатог природног производа направљен је синтетски пут за добијањ самог природног производа и његових аналога. Која је следила њихових биолошког испитивања.
 б) корелационо истраживање, навести тип
 ц) анализа текста, навести тип
 д) остало, навести шта

2.1.2 Навести врсте мерних инструмената или стандарде података специфичних за одређену научну дисциплину (ако постоје).

2.2 Квалитет података и стандарди

2.2.1. Третман недостајућих података

- а) Да ли матрица садржи недостајуће податке? Да **Не**

Ако је одговор да, одговорити на следећа питања:

- а) Колики је број недостајућих података?
 б) Да ли се кориснику матрице препоручује замена недостајућих података? Да **Не**
 в) Ако је одговор да, навести сугестије за третман замене недостајућих података

2.2.2. На који начин је контролисан квалитет података? Описати

Контрола добијених података је извршена логички, методом анализе садржаја и понављањем експерименталних резултата

2.2.3. На који начин је извршена контрола уноса података у матрицу?

Контрола је извршена провером сваког појединачног податка након уноса у матрицу као и

упоређењем података са литературним подацима из предходних истраживања.

3. Третман података и пратећа документација

3.1. Третман и чување података

3.1.1. Подаци ће бити депоновани у Репозиторијуму докторских дисертација на Универзитету у Новом Саду.

3.1.2. URL адреса: <https://cris.uns.ac.rs/searchDissertation.jsf>

3.1.3. DOI

3.1.4. Да ли ће подаци бити у отвореном приступу?

- а) Да
- б) Да, али после ембарга који ће трајати до
- в) Не

Ако је одговор не, навести разлог

3.1.5. Подаци неће бити депоновани у репозиторијум, али ће бити чувани.

Образложење

3.2. Метаподаци и документација података

3.2.1. Који стандард за метаподатке ће бити примењен? **Описни**

3.2.1. Навести метаподатке на основу којих су подаци депоновани у репозиторијум.

Назив фајла: Дисертација –Farkas Sándor, Универзитет у Новом Саду, Природно-математички факултет

Ако је потребно, навести методе које се користе за преузимање података, аналитичке и процедуралне информације, њихово кодирање, детаљне описе варијабли, записа итд.

3.3. Стратегија и стандарди за чување података

3.3.1. До ког периода ће подаци бити чувани у репозиторијуму? **Трајно**

3.3.2. Да ли ће подаци бити депоновани под шифром? Да **Не**

3.3.3. Да ли ће шифра бити доступна одређеном кругу истраживача? Да **Не**

3.3.4. Да ли се подаци морају уклонити из отвореног приступа после извесног времена? Да **Не**

Образложити

4. Безбедност података и заштита поверљивих информација

Овај одељак МОРА бити попуњен ако ваши подаци укључују личне податке који се односе на учеснике у истраживању. За друга истраживања треба такође размотрити заштиту и сигурност података.

4.1. Формални стандарди за сигурност информација/података

Истраживачи који спроводе испитивања с људима морају да се придржавају Закона о заштити података о личности

(https://www.paragraf.rs/propisi/zakon_o_zastiti_podataka_o_licnosti.html) и одговарајућег институционалног кодекса о академском интегритету.

4.1.2. Да ли је истраживање одобрено од стране етичке комисије? Да **Не**

Ако је одговор Да, навести датум и назив етичке комисије која је одобрила истраживање

4.1.2. Да ли подаци укључују личне податке учесника у истраживању? Да **Не**

Ако је одговор да, наведите на који начин сте осигурали поверљивост и сигурност информација везаних за испитанике:

- a) Подаци нису у отвореном приступу
- б) Подаци су анонимизирани
- ц) Остало, навести шта

5. Доступност података

5.1. Подаци ће бити

- a) **јавно доступни**
- б) доступни само уском кругу истраживача у одређеној научној области
- ц) затворени

Ако су подаци доступни само уском кругу истраживача, навести под којим условима могу да их користе:

Ако су подаци доступни само уском кругу истраживача, навести на који начин могу приступити подацима:

5.4. Навести лиценцу под којом ће прикупљени подаци бити архивирани.

Ауторство – некомерцијално – без прераде

6. Улоге и одговорност

6.1. Навести име и презиме и мејл адресу власника (аутора) података

Farkas Sándor, farkas.sandor1203@gmail.com

6.2. Навести име и презиме и мејл адресу особе која одржава матрицу с подацима

Farkas Sándor, farkas.sandor1203@gmail.com

6.3. Навести име и презиме и мејл адресу особе која омогућује приступ подацима другим истраживачима

Farkas Sándor, farkas.sandor1203@gmail.com